

博士論文

低分子医薬品を指向したペプチドミメティクスの  
工業的化学合成法の開発研究

2017 年 3 月

澤井泰宏

## 目次

略語一覧 .....	4
第 1 章 緒言 .....	6
第 1 節 ペプチドを模倣した低分子医薬品（ペプチドミメティクス） .....	6
第 2 節 医薬品のプロセス化学 .....	9
第 3 節 キラリティー制御 .....	12
第 4 節 大量製造に適用可能な精製法の開発 .....	14
第 5 節 新規反応剤の開発 .....	16
第 6 節 参考文献 .....	18
第 2 章 非天然型アミノ酸構造を有するペプチドミメティクス医薬品のプロセス研究 ...	23
第 1 節 序論 .....	23
第 2 節 合成戦略 .....	25
第 3 節 異性化晶析による $\beta$ -メチルトリプトファンのジアステレオ選択的合成 .....	26
第 4 節 ジアステレオマー塩分別晶析による $\beta$ -メチルトリプトファンの光学分割 .....	30
第 5 節 非対称ウレア合成とペプチドカップリング反応の最適化 .....	34
第 6 節 小括 .....	36
第 7 節 実験の部 .....	37
第 8 節 参考文献 .....	44
第 3 章 アモルファスとして開発されるペプチドミメティクス医薬品のプロセス研究 ...	48
第 1 節 序論 .....	48

第2節	キラルなテトラヒドロキノリン中間体の合成 .....	51
第3節	鍵中間体の合成 .....	53
第4節	陽イオン交換クロマトグラフィーによる鍵中間体の精製 .....	55
第5節	鍵中間体の塩の結晶化ならびに塩晶析法による精製 .....	57
第6節	原薬製造工程の最適化 .....	58
第7節	アモルファス医薬品のクロマトフリープロセス .....	60
第8節	小括 .....	61
第9節	実験の部 .....	62
第10節	参考文献 .....	70
第4章	アミノ酸を含有しないペプチドミメティクス医薬品のプロセス研究 .....	72
第1節	序論 .....	72
第2節	新規ビナミジニウム塩の発見 .....	74
第3節	新規ビナミジニウム塩の大量製造法の開発 .....	77
第4節	MCHR1拮抗薬の合成戦略 .....	80
第5節	鍵中間体 7-アミノ-3-ホルミルキノリンの合成法開発 .....	82
第6節	小括 .....	87
第7節	実験の部 .....	87
第8節	参考文献 .....	93
謝辞	.....	96
研究業績リスト	.....	97

## 略語一覧

AFC	aza-Friedel-Crafts	アザーフリーデルークラフツ
Anal	elemental analysis	元素分析
API	active pharmaceutical ingredient	医薬品原薬
ATR	attenuated total reflection	全反射減衰法
$\beta$ -MeTrp	$\beta$ -methyltryptophan	$\beta$ -メチルトリプトファン
CDI	<i>N,N</i> -carbonyldiimidazole	<i>N, N'</i> -カルボニルジイミダゾール
CEC	cation exchange resin chromatography	陽イオン交換クロマトグラフィー
CIDT	crystallization-induced diastereomer transformation	異性化晶析
COD	1,5-cyclooctadiene	1,5-シクロオクタジェン
DCC	<i>N,N</i> -dicyclohexylcarbodiimide	<i>N, N'</i> -ジシクロヘキシル カルボジイミド
DIPAMP	1,2-bis[(2-methoxy-phenyl)- phenylphosphino]ethane	1,2-ビス [(2-メトキシフェニル) フェニルホスフィノ] エタン
DMF	<i>N,N</i> -dimethylformamide	<i>N, N'</i> -ジメチルホルムアミド
DMSO	dimethylsulfoxide	ジメチルスルホキシド
<i>dr</i>	diastereomer ratio	ジアステレオマー比
DS	drug substance	医薬品原薬
DSC	differential scanning calorimetry	示差走査熱量計
DSC	<i>N,N</i> -disuccinimidyl carbonate	<i>N, N'</i> -ジスクシンイミジル カーボナート
EDC	1-[3-(dimethylamino)propyl]-3- ethylcarbodiimide	1- [3- (ジメチルアミノ) プロピル] -3-エチルカルボ ジイミド
<i>ee</i>	enantiomeric excess	エナンチオマー過剰率
ESI	electro spray ionization	エレクトロスプレーイオン法
FAB	fast atom bombardment	高速原子衝撃
Fmoc	9-fluorenylmethyloxycarbonyl	9-フルオレニルメチルオキシ カルボニル
FT	Fourier transform	フーリエ変換
GMP	good manufacturing practice	医薬品及び医薬部外品の製造管理

		及び品質管理の基準
GnRH	Gonadotropin releasing hormone	性腺刺激ホルモン放出ホルモン
GPC	gel permeation chromatography	ゲル浸透クロマトグラフィー
HIV	human immunodeficiency virus	ヒト免疫不全ウィルス
HOBt	1-hydroxybenzotriazole	1-ヒドロキシベンゾトリアゾール
HPLC	high-performance liquid chromatography	高速液体クロマトグラフィー
ICH	International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use	日米 EU 医薬品規制調和国際会議
IR	infrared	赤外線
LCAP	liquid chromatography peak area percent	液体クロマトグラフィーピーク面積百分率
LC-MS	liquid chromatography-mass spectrometry	液体クロマトグラフィー質量分析
L-Dopa	L-3,4-dihydroxyphenylalanine	L-3,4-ジヒドロキシフェニルアラニン
MCH	melanin-concentrating hormone	メラニン凝集ホルモン
MCHR1	melanin-concentrating hormone receptor 1	メラニン凝集ホルモン受容体 1
MEK	methyl ethyl ketone	メチルエチルケトン
MIBK	methyl isobutyl ketone	メチルイソブチルケトン
Mp	melting point	融点
MS	mass spectrometry	質量分析
Ms	methanesulfonyl	メタンスルホニル
NMR	nuclear magnetic resonance	核磁気共鳴
RP-HPLC	reversed phase-HPLC	逆相高速液体クロマトグラフィー
THF	tetrahydrofuran	テトラヒドロフラン
TMS	tetramethylsilane	テトラメチルシラン
TRH	thyrotropin releasing hormone	甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン
Trp	tryptophan	トリプトファン
UV	ultraviolet	紫外線

## 第1章 緒言

### 第1節 ペプチドを模倣した低分子医薬品（ペプチドミメティクス）

酵素や受容体をターゲットにした医薬品の探索研究では、ペプチドを基盤とする化合物が広く研究されており、天然に存在するペプチドや、その構造の一部に修飾が施されたペプチド等に関して多くの成功を収めてきた<sup>1-3</sup>。例えば、骨粗鬆症治療薬テリパラチド（遺伝子組み換えヒト副甲状腺ホルモン（1-34））<sup>4</sup>や抗がん剤リュープロレリン（性腺刺激ホルモン放出ホルモン（GnRH）アナログ）<sup>5</sup>はそのような化合物の代表的な例として知られる（Figure 1-1）。

Teriparatide	H-Ser-Val-Ser-Glu-Ile-Gln-Leu-Met-His-Asn-Leu-Gly-Lys-His-Leu-Asn-Ser-Met-Glu-Arg-Val-Glu-Trp-Leu-Arg-Lys-Lys-Leu-Gln-Asp-Val-His-Asn-Phe-OH
Leuporelin	pGlu-His-Trp-Ser-Tyr-D-Leu-Leu-Arg-Pro-NH-CH <sub>2</sub> -CH <sub>3</sub>

Figure 1-1 ペプチド医薬品

このような研究の一般的な手法としては、ペプチド医薬品に代わって、ペプチド結合の数を減らし、非天然型アミノ酸やその他の有機化合物を導入する等して、より低分子量の化合物へと変換されたペプチドミメティクスが用いられることが多い。ペプチドミメティクスあるいはペプチド模倣分子といった述語は、基となるペプチドの化学構造や生物学的活性を分子レベルで模倣する化合物を指して使用される<sup>6,7</sup>。ペプチドミメティクスは、タンパク分解に対する高い安定性、経口投与時の高い消化管吸収特性、肝臓や腎臓における遅い排出特性等、基となるペプチドに比較してより好ましい薬学的特性を獲得できる<sup>8</sup>。ペプチド構造を有するペプチドミメティクス医薬品の開発成功例として、HIV プロテアーゼ阻害薬サキナビル<sup>9</sup>、リトナビル<sup>10</sup>、インジナビル<sup>11</sup>を Figure 1-2 に示す。また Figure 1-3 には武田薬品工業株式会社によって見出されたペプチドミメティクス糖尿病治療薬候補化合物の例（A、B）を示す<sup>12-14</sup>。

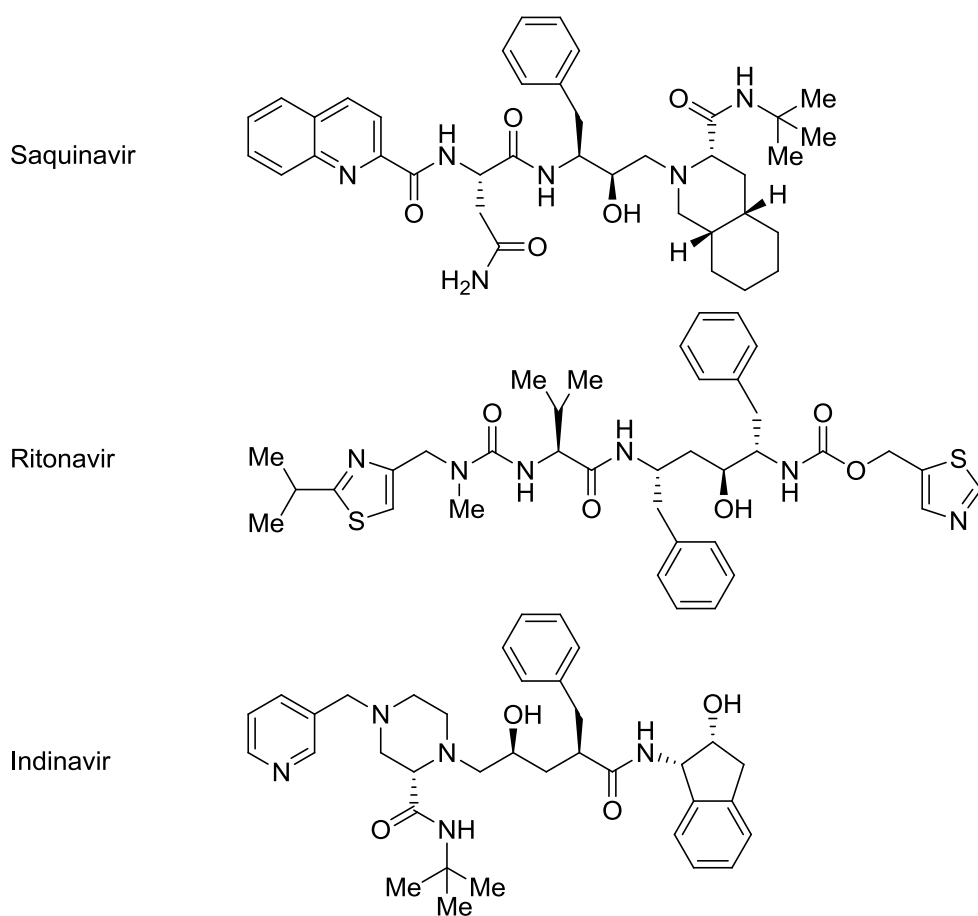


Figure 1-2 ペプチドミメティクス抗 HIV 薬

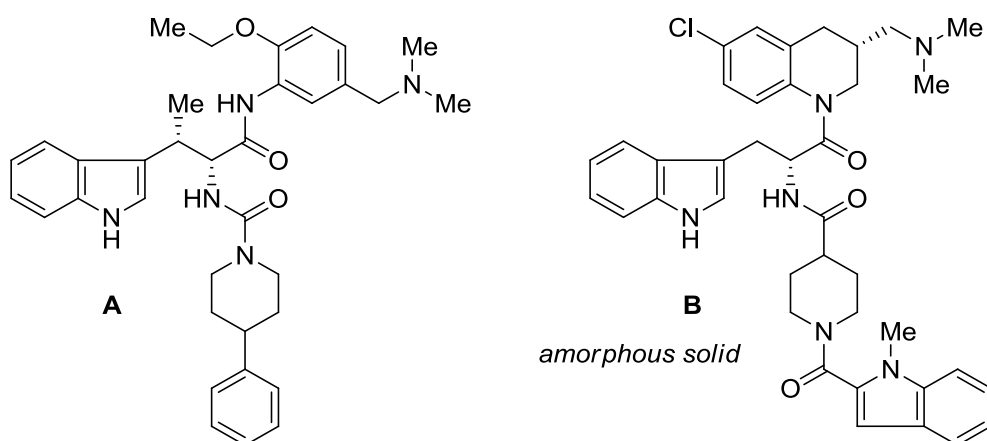
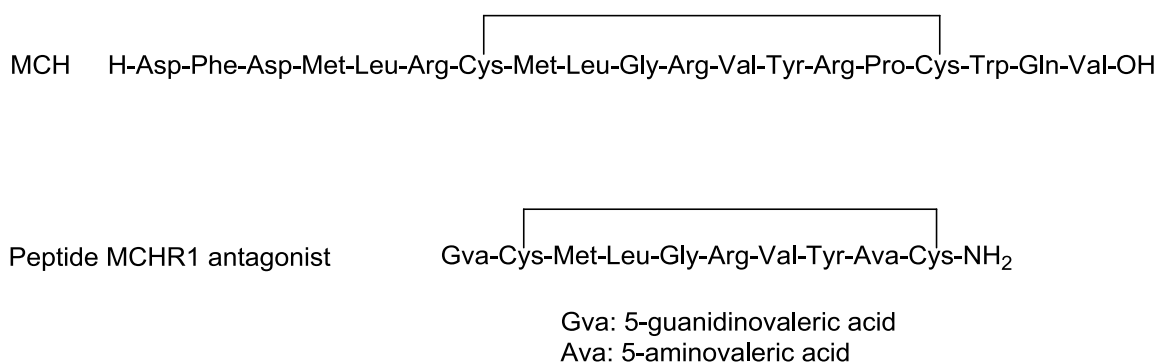


Figure 1-3 ペプチドミメティクス糖尿病治療薬候補化合物

有効性と安全性に関して最適な薬学的特性を実現するため、ペプチドミメティクス医薬品はさらに化学修飾され、究極的にはアミノ酸のモチーフを全く含有しないペプチドミメティクスに誘導されることがある。例えば、メラニン凝集ホルモン受容体 1 (MCHR1) 拮抗薬の創薬研究では、かつて隆盛を極めたペプチドから、アミノ酸を含有しないペプチドミメティクスに研究の主流が移り変わった。メラニン凝集ホルモン (MCH) は 19 残基の環状ペプチドであり、その受容体 1 は抗肥満薬の主要なターゲットの一つとして注目を集めている (Figure 1-4) <sup>15</sup>。



**Figure 1-4** メラニン凝集ホルモン (MCH) とペプチド MCHR1 拮抗薬

ペプチドについては、当該研究領域を牽引する研究者らによって積極的に開発が進められてきたが (Figure 1-4) <sup>16</sup>、2 種類のアミノ酸を含有しないペプチドミメティクス (T-226296<sup>17</sup>、SNAP-7941<sup>18</sup>) がリード化合物として報告されて以降、これらの類似化合物が MCHR1 拮抗薬の開発研究の主流に躍り出た (Figure 1-5)。T-226296 は武田薬品工業株式会社が保有する化合物ライブラリーを用いたスクリーニング研究から見出され、その誘導体 **C** は高活性かつ高選択的な経口 MCHR1 拮抗薬として報告されている (Figure 1-5) <sup>19</sup>。第 2 節では、上述した種々のペプチドミメティクスを医薬品として開発する上で重要な役割を担うプロセス化学について、その概要を論じる。



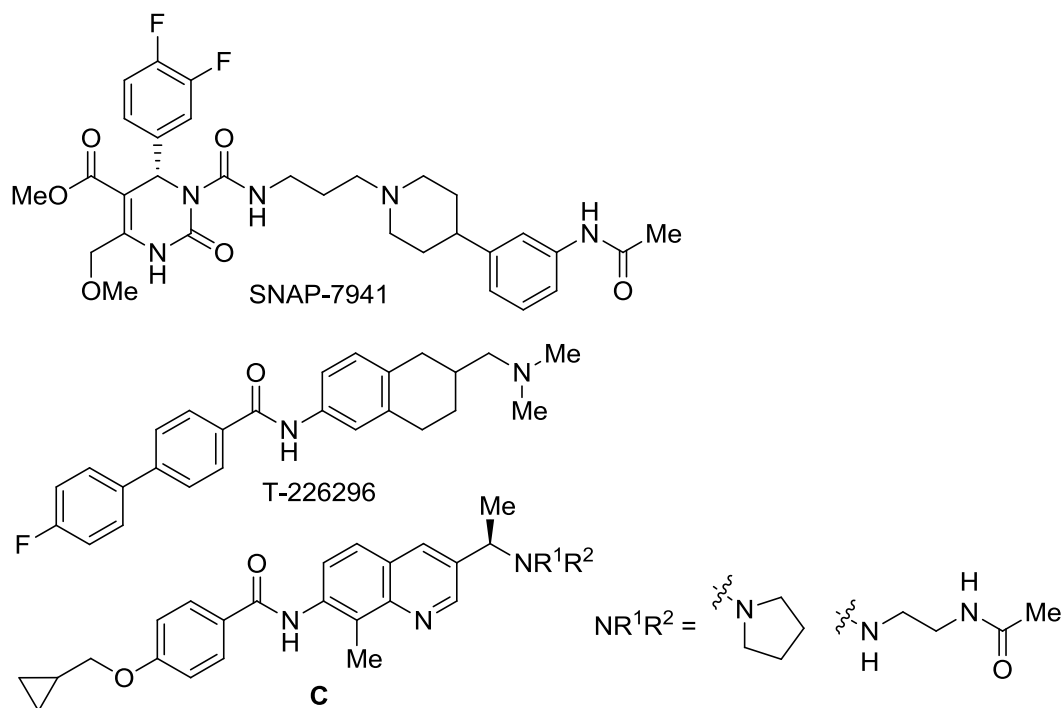


Figure 1-5 アミノ酸を含有しないペプチドミメティクス MCHR1 拮抗薬

## 第2節 医薬品のプロセス化学

一般的に医薬品は、幾段階もの開発ステージを経て研究開発が進められ、最終的に各国当局から製造販売の承認を取得した後、ようやく患者の元に届けられる<sup>20</sup>。その過程においてプロセス化学は、開発初期から市販に至るまでの非常に長い開発期間を支える重要な役割を担っている (Figure 1-6)<sup>21</sup>。プロセス化学に求められる主要な役割は、開発初期のステージにおいては、各種非臨床試験 (薬効薬理試験、薬物動態試験、毒性試験等)、第一相臨床試験、品質試験法開発、製剤開発等に必要な数キログラム程度の医薬品原薬 (API または DS と略される) を合成してタイムリーに供給することである。臨床用原薬については特に、「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律 (薬機法)」の規定に基づき、「医薬品及び医薬部外品の製造管理及び品質管理の基準 (GMP)」に関する省令を遵守して製造および出荷を行う義務がある<sup>22</sup>。開発中期のステージになると、長期反復投与毒性試験や第二相臨床試験等、より長期の投薬期間を設ける試験が計画され、医

薬品原薬の必要量は数十キログラム～数百キログラムに増加することが多い。そのためプロセス化学研究者は、開発初期のステージから、この程度の需要を賄える原薬製造法を確立すべく研究を進める。開発後期のステージになると、より多くの被験患者を対象にした第三相臨床試験が実施される。近年では国際共同治験として進められるケースが多く見受けられ、医薬品原薬の需要は数百キログラム～数トンにまで増加することがある。またこの開発ステージでは、いよいよ将来の商用生産を見据えて本格的に工業化研究が開始される<sup>23</sup>。具体的には、治験段階の品質を保持あるいは向上させながら、より大きなバッチサイズ、より多いバッチ数の商用生産に耐えうる堅牢性の高い製造法の確立に向けて研究が進められる。例えばケミカルエンジニアとの協働により、反応解析のみならず、晶析、濾過、乾燥といった全ての単位操作について、化学工学的見地からも改良が加えられる。これら一連の過程で取り組まれる原価低減や商用製造サイトへの技術移管といった項目についても、プロセス化学者の重要な任務となる。また市販への最終段階となる製造販売承認の申請に向けて、各種申請用データの取得や申請用ドキュメントの作成支援を行うことがプロセス化学者に求められる<sup>24</sup>。

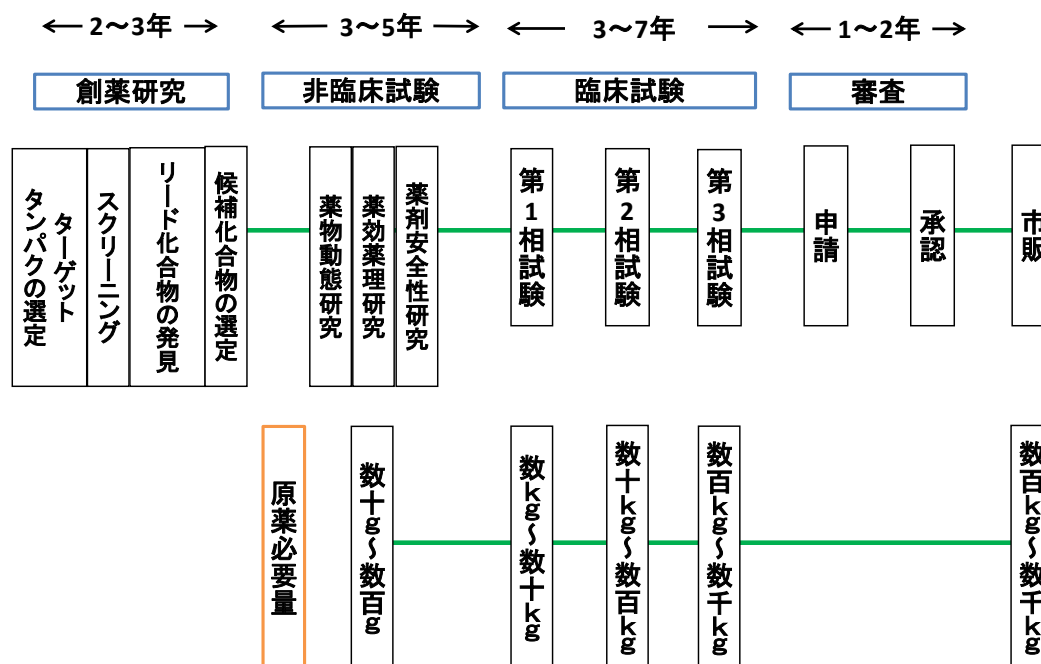


Figure 1-6 医薬品の開発とプロセス化学

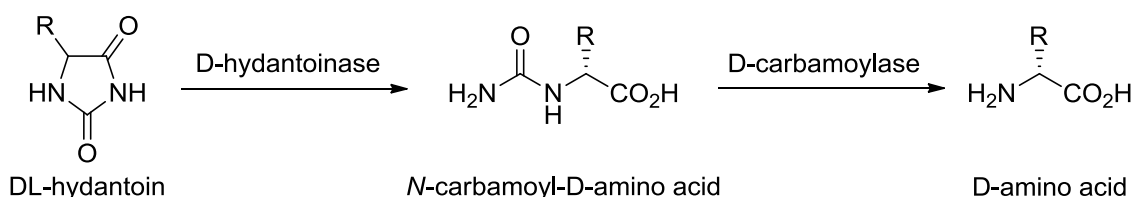
このようにプロセス化学は、各々の開発ステージで求められる要件を満たすことにより医薬品の研究開発を支えているが、その究極的な存在意義は、医薬品原薬の工業的製造法を確立することにある。プロセス化学部門は、医薬品開発候補化合物自体に加えて、その合成法についても基礎研究部門（創薬化学等）から多くの知見を引き継ぐ。しかしながら、創薬化学における合成研究の目的はリード化合物の創出あるいはリード化合物からさらに有望な開発候補化合物への誘導に主眼が置かれているため、プロセス化学が指向する研究目的とは合致せず、その合成法については自ずと改良が必要となることが多い<sup>25</sup>。例えば、少量しか入手できない原料や試薬、危険性が高い試薬や反応、超低温や超高压の反応条件、安定性の低い中間体や毒性の強い中間体の単離精製、スケールアップ困難な精製手段等については、工業的に実施可能な製造法とするため抜本的な改良を施す。また反応および精製ともに十分な再現性を有する方法を確立することで、医薬品製造販売の高い審査基準を達成し、安定した品質の医薬品を患者に安定的に供給できるようにする<sup>26</sup>。高価な試薬や触媒、長い工程数、低収率な工程、長時間を要する単位操作等が含まれる場合は、経済性の観点からも改良を加える<sup>27</sup>。さらに環境への負荷を考慮することも重要であり、グリーンケミストリーの観点から廃棄物の少ない製造法を確立することが求められる<sup>28</sup>。他者の特許に抵触しない製法を採用することは言及するまでもない<sup>29</sup>。

第1節で取り上げたペプチド構造を有するペプチドミメティクスは、ペプチドと似た化学構造や物理化学的特性を保持するが故、そのプロセス研究の過程においてペプチドと同様な種類の検討課題を有することが多い。一方、さらに化学修飾されたアミノ酸を含有しないペプチドミメティクスは、当該化合物がアミノ酸以外の成分で構成されていることから、さらに広範に及ぶ有機合成化学的検討課題をそのプロセス研究にもたらす。第3節および第4節では、ペプチド構造を有するペプチドミメティクス医薬品の主要なプロセス研究課題として、非天然型アミノ酸を含有するペプチドミメティクスのキラリティー制御について、また大量製造に適用可能な精製法の開発について論じる。そして第5節では、アミノ酸を含有しないペプチドミメティクス医薬品のプロセス研究で取り組まれる課題の一例として、汎用性の高い有用な合成試薬の開発の重要性について述べる。

### 第3節 キラリティー制御

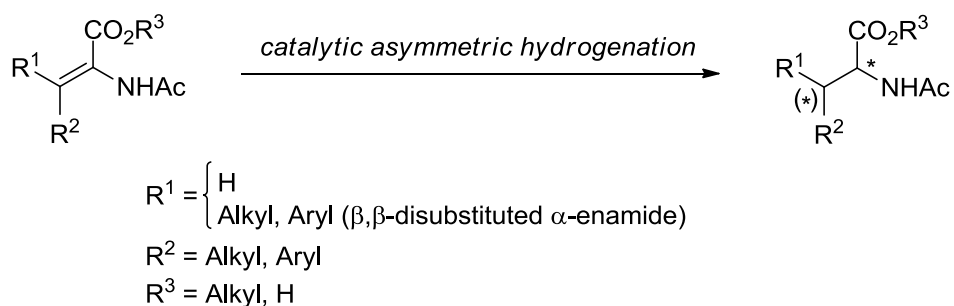
#### ～非天然型アミノ酸構造を有するペプチドミメティクス糖尿病治療薬のプロセス研究～

ペプチドミメティクスのプロセス研究では、製造プロセスの効率改善の一環として、簡便な操作で高い転換率を実現する、有用なペプチド結合形成反応の開発について取り組まれることが多い<sup>30, 31</sup>。これに加えて、ペプチドミメティクスのキラリティーをどのようにして制御するかという点が、重要な研究課題となる。ペプチドミメティクスを形成するキラルフラグメントが全て天然型アミノ酸である場合、そのキラル源には天然型アミノ酸を用いればよいが、ペプチドミメティクスのケミストリーでは、天然型アミノ酸残基の生物学的等価体 (bioisostere) として非天然型アミノ酸を導入することが多い。適切なキラルテクノロジーを駆使して、非天然型アミノ酸の効率的な合成法を開発する研究は、プロセス化学のみならず有機合成化学の一つの主要な研究分野を構築している<sup>32, 33</sup>。これまで、酵素分割法<sup>34</sup>、キラル補助基を用いたエナンチオ選択的合成法<sup>35</sup>、触媒的不斉水素化法<sup>36</sup>等の種々のアプローチにより、キラルビルディングブロックとして高品質な非天然型アミノ酸を供給する試みが行われてきた。例えば D-トリプトファン等の D-アミノ酸は、5 位に置換基を有する DL-ヒダントインから、D-ヒダントイナーゼ、D-カルバモイラーゼを用いた 2 工程の酵素反応によりエナンチオ選択的に合成される (Scheme 1-1)<sup>37, 38</sup>。

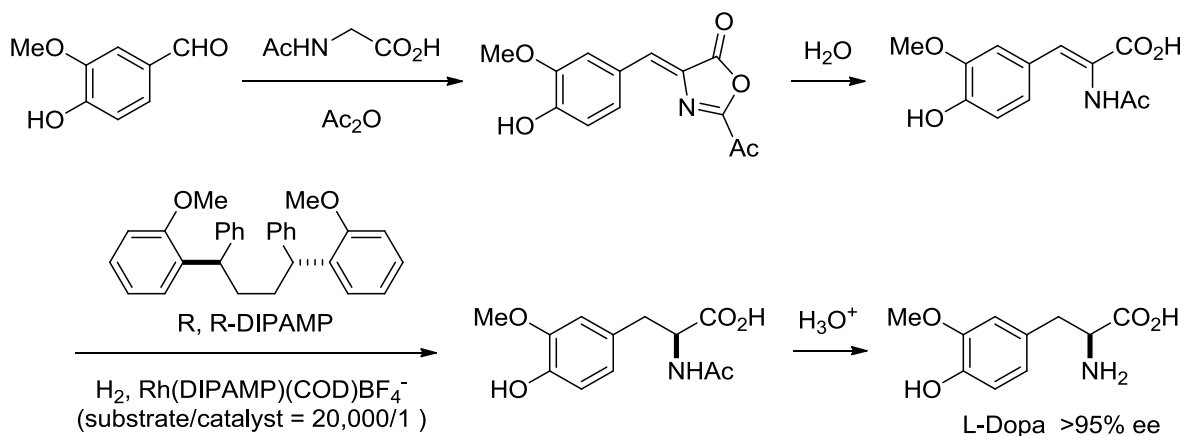


Scheme 1-1 ヒダントインの酵素分解を経由する D-アミノ酸のエナンチオ選択的合成

また  $\beta$  位に種々の置換基を有する光学活性な非天然型  $\alpha$ -アミノ酸は、 $\alpha$ -ヒドロキシカルボニルエナミドまたは  $\alpha$ -アルコキシカルボニルエナミドの不斉水素化により合成される (Scheme 1-2)。この手法は、神経伝達物質でありパーキンソン病の治療にも用いられる L-Dopa の工業的製造への適用が成功して以降、広く利用されるようになった (Scheme 1-3) <sup>39</sup>。



**Scheme 1-2** エナミドの触媒的不斉水素化を経由するアミノ酸のエナンチオ選択的合成



**Scheme 1-3** エナミドの触媒的不斉水素化反応を利用した L-Dopa の工業的製造法

第 2 章で取り上げる、 $\beta$  位で分岐した D-アミノ酸構造を有するペプチドミメティクス 糖尿病治療薬 **A** (Figure 1-3) では、非天然型アミノ酸である  $\beta$ -メチルトリプトファン

( $\beta$ -MeTrp) がその分子骨格に導入されている。この光学活性  $\beta$ -メチルトリプトファンの実用的な製法は知られておらず、糖尿病治療薬 **A** のプロセス研究では、 $\beta$ -メチルトリプトファンのキラリティーをどのようにして構築、制御するかという点が、主要な課題となった。筆者は、スケールアップの観点で技術開発が比較的容易なキラルテクノロジー、異性化晶析およびジアステレオマー塩分別晶析による光学分割を含む短工程な合成ルートに着目して、光学活性  $\beta$ -メチルトリプトファンの実用的合成法の開発研究を行った。また筆者は、上記の方法で得た  $\beta$ -メチルトリプトファンを用いて、高品質な糖尿病治療薬 **A** を高収率で得る方法についても研究を行った。後者では、集積したキラリティーのロスを最小限に抑える縮合反応条件の開発が鍵となった。

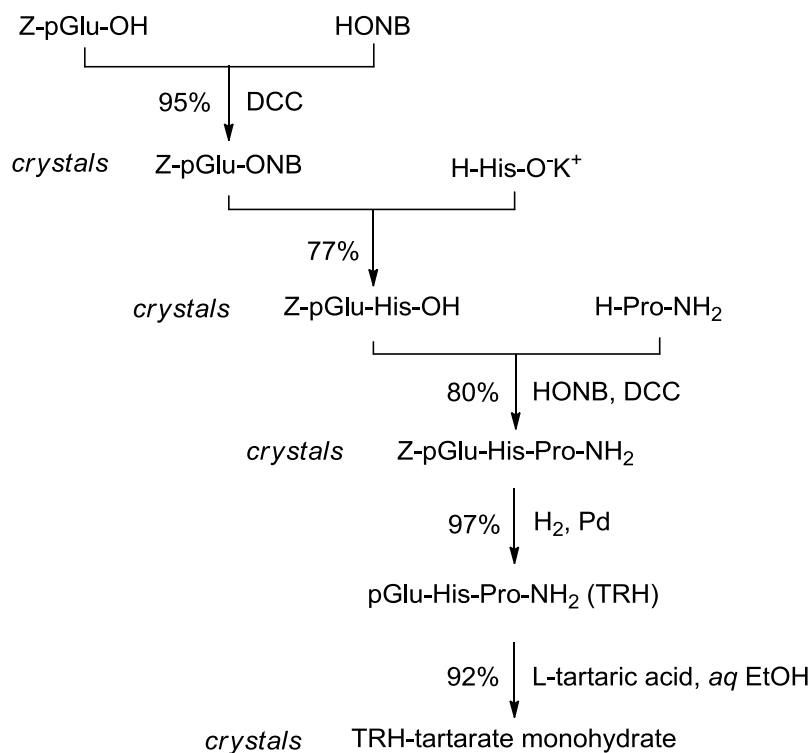
#### 第4節 大量製造に適用可能な精製法の開発

##### ～アモルファスとして開発されるペプチドミメティクス糖尿病治療薬のプロセス研究～

ペプチドミメティクスのプロセス化学では、反応工程における研究課題に加えて、精製工程における研究課題に難問を有することが多い。ペプチドミメティクスを精製するには、未反応の原料を除去するだけでなく、特定のアミノ酸残基に化学修飾を受けた類縁物質ならびに脱保護反応で生じる多量の不要物を除去しなくてはならないが、精製が困難なケースがよく見受けられるからである。

一般に医薬品原薬の精製には、種々存在する精製技術の中でも特に晶析法を利用することが多い。晶析はクロマトグラフィー等の他の精製手段と比較して、スケールアップが容易であり、廃棄物の量が少なく、特に、微量含まれる不純物に関して高い除去効果を期待できるため、医薬品製造における必用不可欠な精製法となっている。また各中間体を晶析精製することは、延いては高品質な医薬品原薬の取得に繋がることもある。例えば、視床下部や甲状腺の機能検査等に使用される甲状腺刺激ホルモン放出ホルモン (TRH) のケー

スでは、全ての中間体（Z-pGlu-ONB, Z-pGlu-His-OH, Z-pGlu-His-Pro-NH<sub>2</sub>）を晶析精製することで、高品質な医薬品原薬 TRH 酒石酸塩の合成が達成された（Scheme 1-4）<sup>40</sup>。



**Scheme 1-4** 全ての中間体を晶析精製することで達成された高品質 TRH 酒石酸塩の合成

残念なことに、ペプチドミメティクスは結晶化に難があることが多々あり、長鎖構造を有する高分子量のペプチドと同様にして、アモルファス（非晶質）または非常に取り扱いにくい固体物性の結晶として得られることがある。このようなケースでは医薬品原薬の精製に晶析法を適用できず、クロマト精製が実行可能かつ有効な手法として用いられる。工業的に実施可能なクロマトグラフィーの種類については、主に医薬品原薬の生産量によって規定される。典型的なペプチド医薬品は高薬理活性であり、それゆえ少ない投薬量で開発される。例えば、第 1 節で例示したテリパラチドは 20  $\mu$ g/日、リユープロレリン（徐放性製剤）は 3.75 mg/4 週という極めて少量の投薬量となっている。その結果、これら

医薬品原薬の生産量は比較的少なく、多くの種類のクロマトグラフィーがその工業的製造法に適用可能となる。これとは対照的に、ペプチドミメティクス医薬品が、例えば糖尿病のような生活習慣病領域の疾患に用いられる場合、比較的大きな生産量となることが多い。通常、大規模な生産に適用できるクロマトグラフィーの種類は限定され、このような化合物のプロセス研究では、クロマトグラフィーを含めてスケールアップ可能な精製法の開発に焦点が当てられる。

第3章で取り上げる、ペプチドミメティクス糖尿病治療薬 **B** (Figure 1-3) は、フリー体のみならず、種々の酸との塩でさえも結晶化せず、アモルファス医薬品として開発が進められた。創薬化学の合成法では、シリカゲルカラムクロマトグラフィーおよびアルミナカラムクロマトグラフィーにより原薬の精製が行われた。これらは都度廃棄されることになる固定相の処理等の問題があり、大量製造には適さない。また対象疾患を考慮すると、将来的な医薬品原薬の供給量は比較的大規模となることが想定された。そのため糖尿病治療薬 **B** のプロセス研究では、アモルファス医薬品をどのようにして大量に精製するかという点が、主要な課題となった。筆者は、スケールアップ可能な陽イオン交換クロマトグラフィーによるアモルファス化合物の精製法開発を中心に、アモルファス医薬品の大量製造法の開発研究を行った。またさらに筆者は、グリーンケミストリーの観点から<sup>28</sup>、環境に大きな負荷を与える有機溶媒の使用量を削減可能な酸-塩基を用いた液相抽出法に着目し、よりグリーンな次世代製造法としてクロマトグラフィーを用いないクロマトフリープロセスの開発研究を行った。

## 第5節 新規反応剤の開発

### ～アミノ酸を含有しないペプチドミメティクス抗肥満薬のプロセス研究～

第2節で述べたように、アミノ酸を含有しないペプチドミメティクスのプロセス研究には、より広範な合成化学的検討課題が含まれる。すなわち一般の有機合成化学と同じく、



汎用性の高い有用な合成試薬や合成シントンの開発等についても、そのプロセス研究過程で取り組まれることになる。例えば 1,5-アザペンタジエニウム塩（ビナミジニウム塩）は三炭素増炭反応剤として知られているが（Figure 1-7）<sup>41</sup>、このような試薬を用いた合成研究はアカデミアだけでなく産業界からも広く注目を集めている。例えば、変形性関節症やリウマチ性関節炎等の鎮痛剤として用いられるエトリコキシブの工業的製造法では、2-クロロビナミジニウム塩を用いたピリジン閉環反応が適用された（Scheme 1-5）<sup>42</sup>。

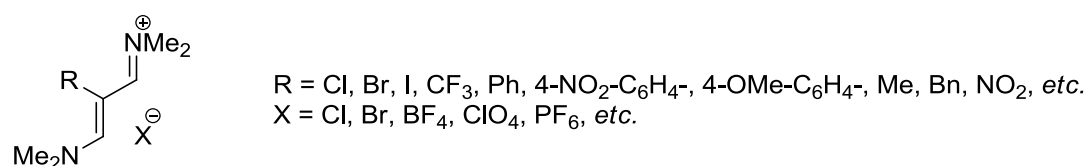
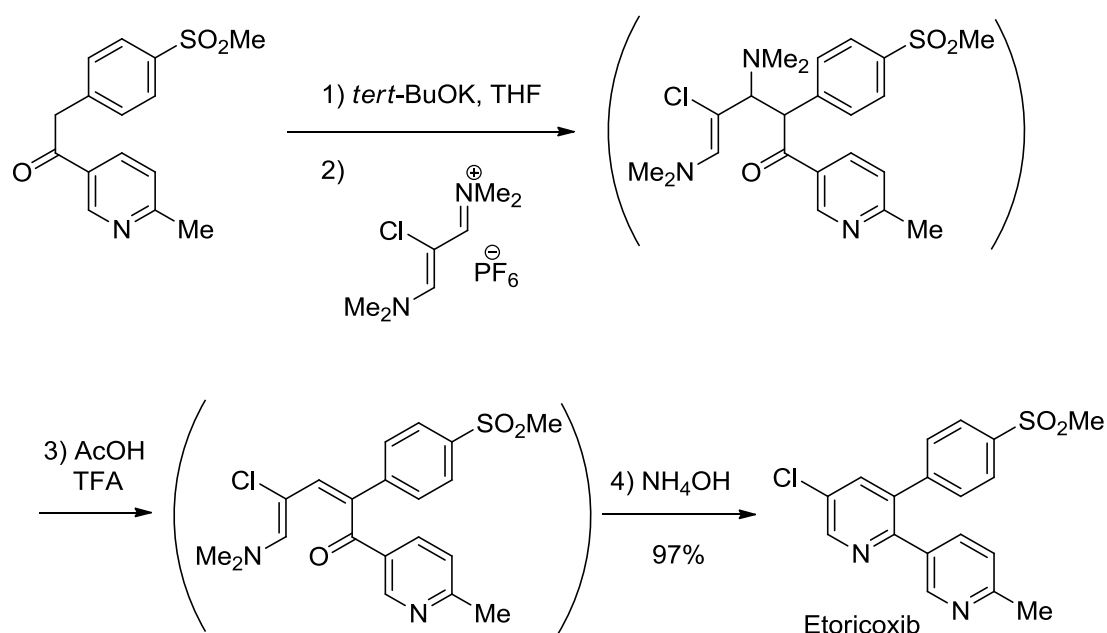


Figure 1-7 三炭素増炭反応剤－ビナミジニウム塩



Scheme 1-5 2-クロロビナミジニウム塩を利用したエトリコキシブの合成

第4章で取り上げる、アミノ酸を含有しないペプチドミメティクス抗肥満薬 **C** (Figure 1-5) は、創薬化学の合成法では既存の 2-イミノオメチルビナミジニウムビステトラフルオロホウ酸塩を用いたキノリン閉環反応を適用して合成された。2-イミノオメチルビナミジニウム塩は、種々のカウンターアニオンのものが知られているが、潮解性を有する等、大量製造の観点からは何れも何らかの問題を抱えていた。そのため、抗肥満薬 **C** のプロセス研究では、大量製造に適した新しいタイプの 2-イミノオメチルビナミジニウム塩の開発が主要な課題となった。筆者は、潮解性を示さず空气中で容易に取り扱える新規な 2-イミノオメチルビナミジニウム塩を見出し、その大量製法の開発研究を行った。また筆者は、当該新規試薬をキノリン環化反応に適用して抗肥満薬 **C** の鍵中間体、7-アシルアミノ-3-ホルミルキノリンを合成する方法について研究を行った。

以下、第2章では、第3節で取り上げた非天然型アミノ酸構造を有するペプチドミメティクス糖尿病治療薬 **A** のプロセス研究について、キラリティー制御法の開発を中心に論じる。また第3章では、第4節で取り上げたアモルファスとして開発されるペプチドミメティクス糖尿病治療薬 **B** のプロセス研究について、大量製造に適用可能な精製法の開発を中心に述べる。そして第4章では、第5節で取り上げたアミノ酸を含有しないペプチドミメティクス抗肥満薬 **C** のプロセス研究について、その過程で取り組んだ新規有用合成試薬 2-イミノオメチルビナミジニウム塩の開発および当該試薬を活用した 7-アシルアミノ-3-ホルミルキノリン中間体の合成法開発について論じる。

## 第6節 参考文献

- (1) Weckbecker, G.; Lewis, I.; Albert, R.; Schmid, H. A.; Hoyer, D.; Bruns, C. *Nat. Rev. Drug Discovery* **2003**, 2, 999-1017.
- (2) Tyndall, J. D. A.; Pfeiffer, B.; Abbenante, G.; Fairlie, D. P. *Chem. Rev.* **2005**, 105, 793-826.

- (3) Blakeney, J. S.; Reid, R. C.; Le, G. T.; Fairlie, D. P. *Chem. Rev.* **2007**, *107*, 2960-3041.
- (4) Neer, R. M.; Arnaud, C. D.; Zanchetta, J. R.; Prince, R.; Gaich, G. A.; Reginster, J.-Y.; Hodsman, A. B.; Eriksen, E. F.; Ish-Shalom, S.; Genant, H. K.; Wang, O.; Mitlak, B. H. *N. Engl. J. Med.* **2001**, *344*, 1434-1441.
- (5) Fujino, M.; Fukuoka, T.; Shinagawa, S.; Kobayashi, S.; Yamaski, I.; Nakayama, R.; Seely, H.; White, W. F.; Rippel, R. H. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1974**, *60*, 406-413.
- (6) Gante, J. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1994**, *33*, 1699-1720.
- (7) Wu, Y.-D.; Gellman, S. *Acc. Chem. Res.* **2008**, *41*, 1231-1232.
- (8) Giannis, A.; Kolter, T. *Angew. Chem. Int. Ed.* **1993**, *32*, 1244-1267.
- (9) Roberts, N. A.; Martin, J. A.; Kinchington, D.; Broadhurst, A. V.; Craig, J. C.; Duncan, I. B.; Galphin, S. A.; Handa, B. K.; Krohn, A.; Lambert, R. W.; Merrett, J. H.; Mills, J. S.; Parkes, K. E. B.; Redshaw, S.; Ritchie, A. J.; Taylor, D. L.; Thomas, G. J.; Machin, P. J. *Science* **1990**, *248*, 358-361.
- (10) Kempf, D. J.; Marsh, K. C.; Denissen, J. F.; McDonald, E.; Vasavanonda, S.; Flentge, C. A.; Green, B. E.; Fino, L.; Park, C. H.; Kong, X.-P.; Wideburg, N. E.; Saldivar, A.; Ruiz, L.; Kati, W. M.; Sham, H. L.; Robins, T.; Stewart, K. D.; Hsu, A.; Plattner, J. J.; Leonard, J. M.; Norbeck, D. W. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1995**, *92*, 2484-2488.
- (11) Vacca, J. P.; Dorsey, B. D.; Schleif, W. A.; Levin, R. B.; McDaniel, S. L.; Darke, P. L.; Zugay, J.; Quintero, J. C.; Blahy, O. M.; Roth, E. *Proc. Natl. Acad. Sci.* **1994**, *91*, 4096-4100.
- (12) Abe, H.; Matsunaga, S.; Takekawa, S.; Watanabe, M. *PCT Int. Appl.* WO2004/046107, **2004**.
- (13) Kato, K.; Terauchi, J.; Suzuki, N.; Takekawa, S. *PCT Int. Appl.* WO2001/025228, **2001**.

- (14) Abe, H. *MEDCHEM NEWS* **2007**, 17(3), 18-22.
- (15) 抗肥満薬としての MCHR1 拮抗薬に関する総説 : (a) Carpenter, A. J.; Hertzog, D. L. *Expert Opin. Ther. Patents* **2002**, 12, 1639-1646; (b) Luthin, D. R. *Life Science* **2007**, 81, 423-440; (c) Kim, G.W.; Lin, J. E. ; Blomain, E. S.; Waldman, S. A. *Expert Opin. Drug Discov.* **2013**, 8, 655-671.
- (16) Bednarek, M. A.; Hreniuk, D. L.; Tan, C.; Palyha, O. C.; MacNeil, D. J.; Van der Ploeg, L. H. Y.; Howard, A. D.; Feighner, S. D. *Biochemistry* **2002**, 41, 6383-6390.
- (17) Takekawa, S.; Asami, A.; Ishihara, Y.; Terauchi, J.; Kato, K.; Shimomura, Y.; Mori, M.; Murakoshi, H.; Kato, K.; Suzuki, N.; Nishimura, O.; Fujino, M. *Eur. J. Pharmacol.* **2002**, 438, 129-135.
- (18) Borowsky, B.; Durkin, M. M.; Ogozalek, K.; Marzabadi, M. R.; Delen, J.; Heurich R.; Lichtblau, H.; Shaposhnik, Z.; Daniewska, I.; Blackburn, T. P.; Branchek, T. A.; Gerald, C.; Vaysse, P. J.; Forray, C. *Nature Medicine* **2002**, 8, 825-830.
- (19) Kasai, S.; Kamata, M.; Masada, S.; Kunitomo, J.; Kamaura, M.; Okawa, T.; Takami, K.; Ogino, H.; Nakano, Y.; Ashina, S.; Watanabe, K.; Kaisho, T.; Imai, Y. N.; Ryu, S.; Nakayama, M.; Nagisa, Y.; Takekawa, S.; Kato, K.; Murata, T.; Suzuki, N.; Ishihara, Y. *J. Med. Chem.* **2012**, 55, 4336-4351.
- (20) 古澤康秀、大室弘美、児玉庸夫、成川衛著、医薬品開発入門、じほう、**2013**.
- (21) 医薬品のプロセス化学に関する近年の成書 : (a) Anderson, N. G. *Practical Process Research and Development*, 2nd ed.; Academic Press: New York, **2012**; (b) 日本プロセス化学会編、医薬品のプロセス化学第 2 版、化学同人、**2013**; (c) 日本プロセス化学会編、実践プロセス化学、化学同人、**2013**.
- (22) GMP ガイドライン : (a) ICH Q7A: Good Manufacturing Practice Guide for Active Pharmaceutical Ingredients, November 10, 2000; (b) 平成 13 年 11 月 2 日付医薬発第 1200 号「原薬 GMP ガイドラインについて」
- (23) 技術情報協会編、製造プロセスのスケールアップの正しい進め方とトラブル対策事例集、技術情報協会、**2012**.

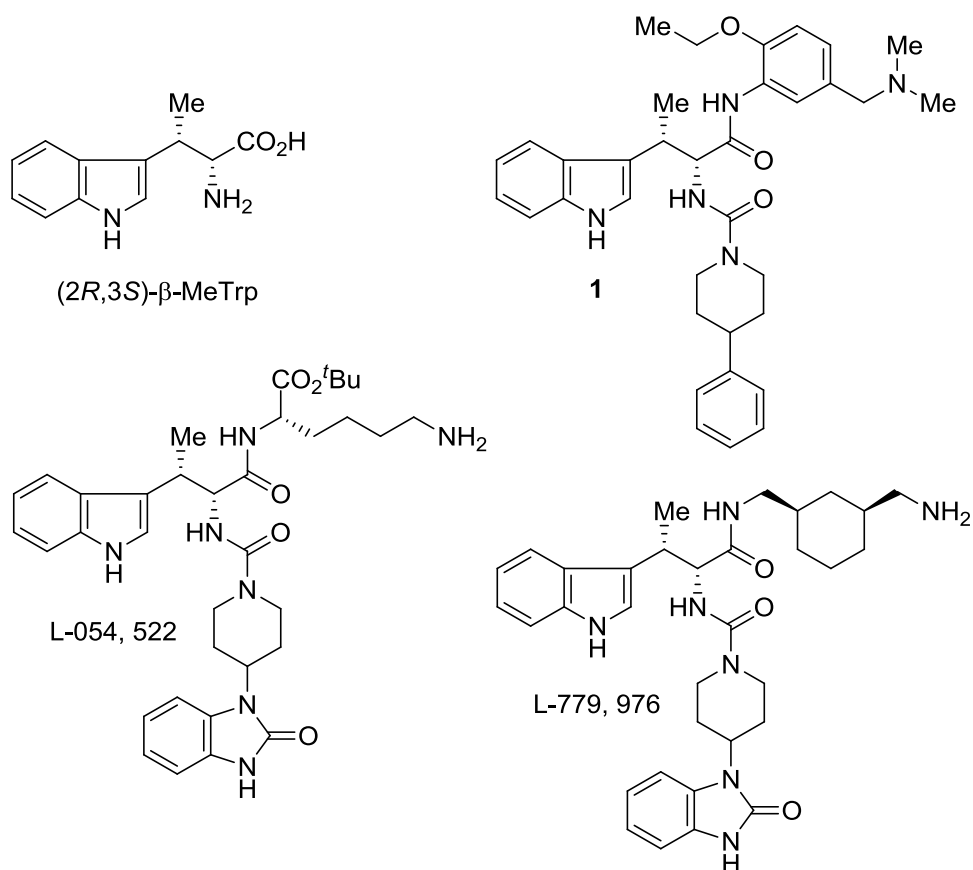
- (24) 公益財団法人日本薬剤師研修センター編、医薬品承認申請ガイドブック 2016-16、薬事日報社、**2016**.
- (25) 創薬化学に関する近年の成書：(a) 有機合成化学協会編、トップドラッグから学ぶ創薬化学、東京化学同人、**2012**；(b) 有機合成化学協会編、医薬品の合成戦略、化学同人、**2015**.
- (26) 一般社団法人レギュラトリーサイエンス学会監修、医薬品製造販売指針 2015、じほう、**2015**.
- (27) 一般財団法人医薬品医療機器レギュラトリーサイエンス財団編、基礎から学ぶ医療経済評価、じほう、**2014**.
- (28) グリーンケミストリーに関する総説：(a) Anastas, P. T.; Warner, J. C. *Green Chemistry: Theory and Practice*, Oxford University Press: New York, **1998**；(b) Constable, D. J. C.; Dunn, P. J.; Hayler, J. D.; Humphrey, G. R.; Leazer, Jr., J. L.; Linderman, R. J.; Lorenz, K.; Manley, J.; Pearlman, B. A.; Wells, A.; Zaks, A.; Zhang, T. Y. *Green Chem.* **2007**, *9*, 411-420；(c) Leahy, D. K.; Tucker, J. L.; Mergelsberg, I.; Dunn, P. J.; Kopach, M. E.; Purohit, V. C. *Org. Process Res. Dev.* **2013**, *17*, 1099-1109.
- (29) 杉田健一著、医薬品業界の特許事情、薬事日報社、**2006**.
- (30) El-Faham, A.; Albericio, F. *Chem. Rev.* **2011**, *111*, 6557-6602.
- (31) Gernigon, N.; Al-Zoubi, R. M.; Hall, D. G. *J. Org. Chem.* **2012**, *77*, 5386-8400.
- (32) Ager, D. J. In *Process Chemistry in the Pharmaceutical Industry, Volume 2*, Gadamasetti, K.; Braish, T. Eds.; CRC Press LLC: Boca Raton, 2007; pp. 157-176.
- (33) Ager, D. J. In *Handbook of Chiral Chemicals*, Ager, D. J. Ed.; CRC Press LLC: Boca Raton, 2005; pp. 11-27.
- (34) Kamphuis, J.; Meijer, E. M. W.; Boesten, H.; Sonke, T.; van den Tweel, W. J.; Schoemaker, H. E. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **1992**, *672*, 510-27.
- (35) de Lange, B.; Boesten, W. H. J.; van der Sluis, M.; Uiterweerd, P. G. H.; Elsenberg, H. L. M.; Kellogg, R. M.; Broxterman, Q. B. In *Handbook of Chiral Chemicals*, Ager, D. J. Ed.; CRC Press LLC: Boca Raton, 2005; pp. 487-502.

- (36) Blaser, H.-U.; Schmidt, E. In *Asymmetric Catalysis on Industrial Scale*, Blaser, U.; Schmidt E. Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, 2004; pp. 1-15.
- (37) Nozaki, H.; Takenaka, Y.; Kira, I.; Watanabe, K.; Yokozeki, K. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* **2005**, *32*, 213-218.
- (38) Martinez-Rodriguez, S.; Heras-Vazquez, F. J. L.; Clemente-Jimenez, J. M.; Mingorance-Cazorla, L.; Rodriguez-Vico, F. *Biotechnol. Prog.* **2002**, *18*, 1201-1206.
- (39) Knowles, W. S. *Acc. Chem. Res.* **1983**, *16*, 106-112.
- (40) Obayashi, M.; Nishimura, O.; Toukai, N.; Fujino, M. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **1974**, *60*, 1345-1350.
- (41) 第4章の参考文献 2～17 参照
- (42) Davies, I. W.; Marcoux, J.-F.; Corley, E. G.; Journet, M.; Cai, D.-W.; Palucki, M.; Wu, J.; Larsen, R. D.; Rossen, K.; Pye, P. J.; DiMichele, L.; Dormer, P.; Reider, P. J. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 8415-8420.

## 第2章 非天然型アミノ酸構造を有するペプチドミメティクス医薬品のプロセス研究

### 第1節 序論

生物学的に活性な化合物にコンホメーションが適度に制限されたアミノ酸を組み込む手法は、その活性を適度に調整したり、レセプターの選択性を向上したりするアプローチとして広く知られている<sup>1-3</sup>。このような文脈において、 $\beta$ -メチルトリプトファン ( $\beta$ -MeTrp) はペプチドを基盤とする医薬品探索研究の分野で特に注目を集めている<sup>4-7</sup>。例えば  $\beta$ -メチルトリプトファンは、糖尿病治療薬の候補化合物 **1**<sup>8</sup>、L-054,522<sup>9</sup>、L-779,976<sup>9</sup> 等で、天然型アミノ酸残基の生物学的等価体 (bioisostere) として用いられてきた (Figure 2-1)<sup>10</sup>。



**Figure 2-1**  $\beta$ -メチルトリプトファンと  $\beta$ -メチルトリプトファン構造を有するペプチドミメティクス糖尿病治療薬の候補化合物

$\beta$ -メチルトリプトファンの合成は、Snyder らによる先駆的な研究以降<sup>11</sup>、数多くの試みが行われてきた<sup>12,13</sup>。例えば光学活性  $\beta$ -メチルトリプトファンは、ジアステレオマー塩分別晶析による古典的な光学分割<sup>14,15</sup>、酵素加水分解による動的分割<sup>16</sup>等により合成されてきた。エナンチオ選択的合成の例も幾つか報告されているが<sup>17-20</sup>、これらの方法は、大量製造の観点からは、数多くの工程が必要、高価なキラル補助基の導入が必要、複数の保護基が必要等といった問題を抱える。

非天然型  $\alpha$ -アミノ酸の工業的製造には、触媒的不斉水素化反応をベースにした合成法の適用を考慮できる<sup>21</sup>。実際、第 1 章第 3 節で述べたように、容易に調製できる  $\alpha$ -ヒドロキシカルボニルエナミドまたは  $\alpha$ -アルコキシカルボニルエナミドの不斉水素化は、非天然型  $\alpha$ -アミノ酸の合成にしばしば適用される。しかしながら当該手法は、どのような種類の非天然型  $\alpha$ -アミノ酸にも容易に適用できるわけではない。例えば  $\beta$  位で分岐したアミノ酸をエナンチオ選択的に合成するには、 $\alpha$  位と  $\beta$  位の隣り合う二つの炭素のキラリティーを同時に制御する必要があり、そのためには前駆体  $\beta, \beta$ -二置換  $\alpha$ -エナミドの合成段階において、幾何異性体の選択的合成という付加的な立体制御の問題が生じる (Scheme 1-2 参照)<sup>22</sup>。 $\beta$ -メチルトリプトファンの場合、 $\beta, \beta$ -二置換  $\alpha$ -エナミド前駆体の幾何異性体を選択的に合成することが困難であり、触媒的不斉水素化工程の前に、幾何異性体をクロマト精製により分割する必要があった<sup>23</sup>。

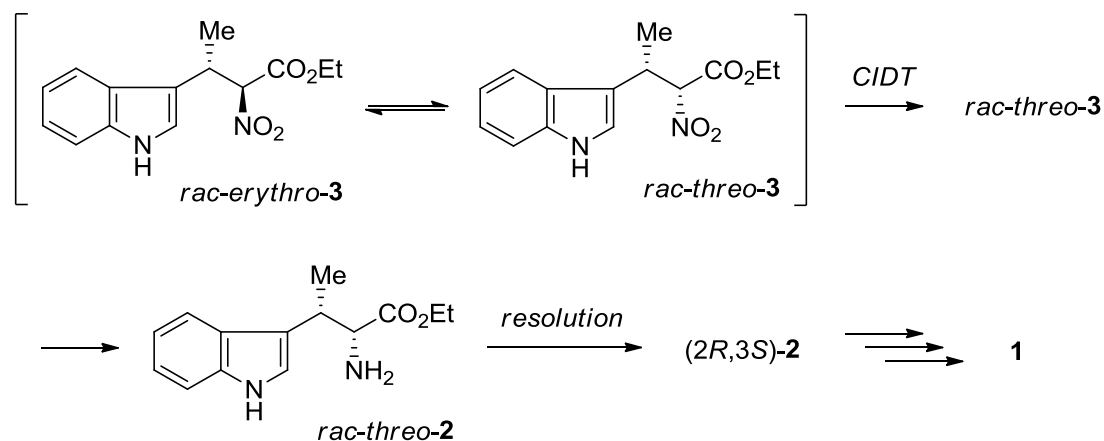
武田薬品工業株式会社で実施された糖尿病治療薬の開発プログラムの一環として、数キログラムの医薬品原薬 **1** を供給すべく、その効率的な合成法を開発する必要があった。ペプチドミメティクス **1** のプロセス研究における最大の検討課題は、光学活性  $\beta$ -メチルトリプトファンエステル **2** の合成法開発にあった。筆者は、スケールアップの観点で技術開発が比較的容易な晶析技術を基盤とする 2 種類のキラル制御プロセス、異性化晶析 (crystallization-induced diastereomer transformation, CIDT) およびジアステレオマー塩分別晶析による光学分割を含む短工程な合成ルートに着目して研究を行った。ここで言う異性化晶析とは、立体選択的な結晶化ならびに系中で同時に進行するエピマー化のハイブリッ



ドプロセスを指す<sup>24,25</sup>。また筆者は、上記の方法で得た光学活性鍵中間体(2*R*,3*S*)-**2**を用いて、高品質な糖尿病治療薬 **1** を高収率で得る方法についても研究を行った。当該工程では、非対称ウレアの選択的合成および集積したキラリティーのロスを最小限に抑えたペプチドカップリング反応条件の開発が鍵となった。

## 第2節 合成戦略

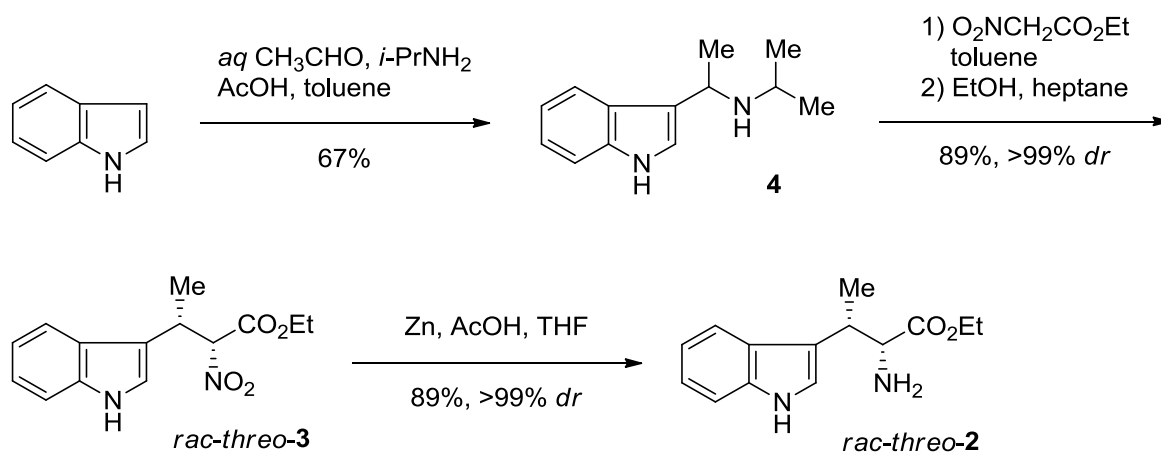
上述したように、光学活性  $\beta$  -メチルトリプトファン合成のコンセプトは、2 種類のキラル制御プロセスに基づく (Scheme 2-1)。一つは、異性化晶析によるラセミ体トレオール  $\alpha$  -ニトロエステル (*rac*-**threo-3**) のジアステレオ選択的合成である。 $\alpha$  -ニトロエステルの  $\alpha$  -水素の高い酸性度を活用することにより、固相での結晶成長と液相でのエピマー化を同時に進行させることを目論んだ。もう一つは光学活性酸を分割剤に用いたトレオール  $\beta$  -メチルトリプトファンエステル (*rac*-**threo-2**) のジアステレオマー塩分別晶析による光学分割である。得られた光学活性体(2*R*,3*S*)-**2** は、二種類の縮合反応を経て糖尿病治療薬 **1** へと誘導される<sup>8</sup>。



Scheme 2-1 糖尿病治療薬 **1** の合成戦略

### 第3節 異性化晶析による $\beta$ -メチルトリプトファンのジアステレオ選択的合成

異性化晶析の基質となる  $\alpha$ -ニトロエステルのジアステレオマー混合物 (*rac-threo-3* と *rac-erythro-3*) は、Snyder の“gramine chemistry”を適用して合成した (Scheme 2-2)。最初の工程は、インドール、アセトアルデヒド、イソプロピルアミンの3成分による one-pot aza-Friedel-Crafts (AFC) 反応である。Snyder らの報告によると、当該 AFC 反応により 39%の収率で **4** が得られる<sup>11</sup>。単離した結晶の熱力学的安定性を調査したところ、その半減期は 60 °C で約 2 ヶ月と比較的短いことが判明した。この低い熱力学的安定性を考慮して、AFC 反応を 0~10 °C で行うとともに、**4** の結晶単離を含めた後処理工程の全操作を 0~10 °C で実施できるよう最適化した<sup>26</sup>。具体的には、酸-塩基を用いた液相抽出、酸性水溶液からの中和晶析を組み合わせた精製法を確立した。その結果、**4** の単離収率は 67% まで向上した。安定性を考慮した反応条件および後処理法としたことで、熱力学的安定性の低い化合物であるにも関わらず、大量製造時においても、品質や収率の再現性に関して問題を生じることがなかった。



Scheme 2-2 異性化晶析を経由する *rac-threo-2* のジアステレオ選択的合成

続く工程は **4** とニトロ酢酸エチルとの炭素－炭素結合形成反応である。当該反応は両基質をトルエン中で加熱することで容易に進行し、*rac-threo-3* と *rac-erythro-3* (6 : 4) のジアステレオマー混合物を与えた<sup>12</sup>。*rac-threo-3* のメチルエステル体は、クロロホルムとヘキサン (3 : 2) の混合溶媒から再結晶することにより、50%を上回る収率で単一のジアステレオマーとして得られると報告されていることから<sup>12</sup>、*rac-threo-3* を異性化晶析によりジアステレオ選択的に得ることは可能と推測した。メチルエステルではなくエチルエステルを選択した理由はその融点の差にある。エチルエステルのより高い融点は、異性化晶析に有利に働く可能性があると考えた (メチルエステルの融点 : 94–95 °C、エチルエステルの融点 : 117–119 °C、メチルエステルの結晶にはエピマーが残留する傾向がみられた)。

異性化晶析の検討を開始するに当たり、まずは **3** のエピマー化と結晶化について個別に検討した。エピマー化の検討では、温度および塩基の添加がエピマー化速度に与える影響を調査した。エタノールを溶媒に用いて、等モルのイソプロピルアミンの存在下または非存在下、*rac-threo-3* の様々な温度におけるエピマー化速度を観測した結果を Figure 2-2 に示す。アミンが存在しない系においては、50 °C では比較的早くエピマー化が進行して 3 時間以内に平衡 (*rac-threo-3* : *rac-erythro-3* = 6 : 4) に達した。一方 25 °C では、3 時間では平衡に到達せず、*rac-threo-3* と *rac-erythro-3* の 9 : 1 混合物を与えた。また 0 °C ではエピマー化がほとんど観測されなかった。この結果は、アミンが存在しない系ではエピマー化速度は大きく温度に依存し、低温側では異性化晶析に十分なエピマー化速度が得られない可能性があることを示唆している。これとは際立って対照的に、アミンが存在する系においては、25 °C では 0.1 時間以内に平衡に達し、0 °C でも 0.5 時間以内に平衡に達した。低温側での晶析操作は回収率の向上に寄与することから、低温側で十分なエピマー化速度が得られたことは、効率的な異性化晶析の実現可能性を高めることに繋がる。結晶化の検討では、クロロホルムおよびヘキサンが比較的高い毒性を有することを考慮して、これらの代替溶媒を重点的に検討した。その結果、エタノールとヘプタン (1 : 2) の混合溶媒を使用して 0 °C で *rac-threo-3* を再結晶すると、高い回収率で *rac-threo-3* が得られることを見出した。

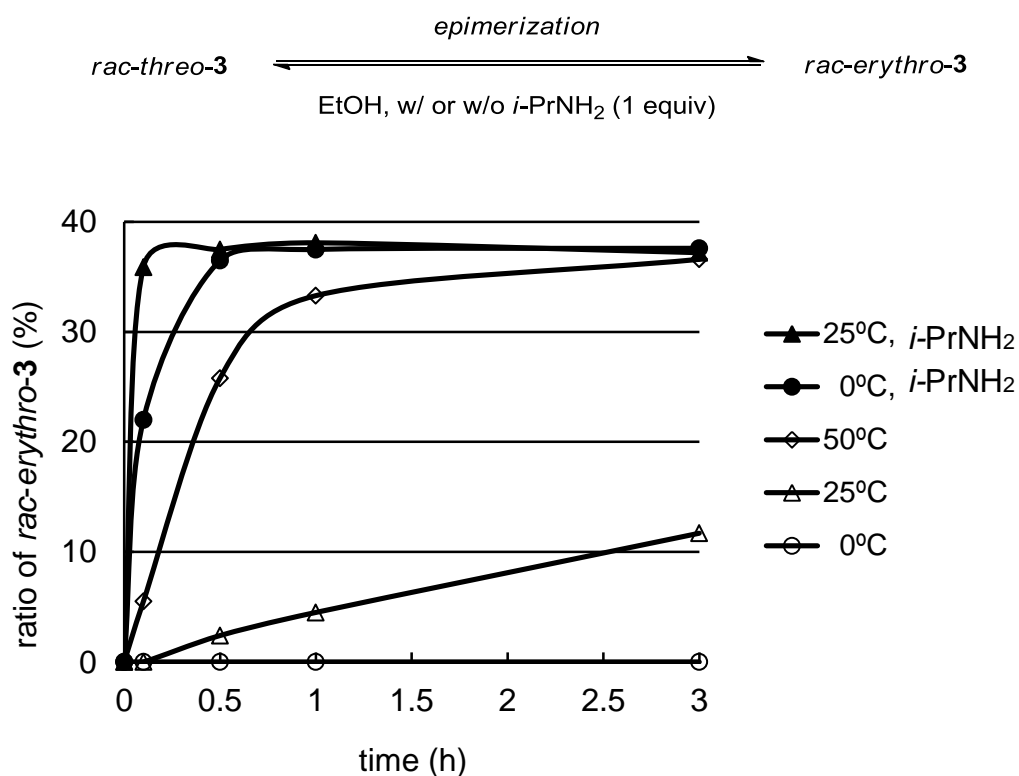


Figure 2-2 温度および塩基の添加がエピマー化速度に与える影響

エピマー化と結晶化、それぞれ独立して行った実験結果を基に、これらを統合したプロセスとして、異性化晶析の最適化検討を実施した (Table 2-1)。まず等モルのイソプロピルアミンの存在下、異性化晶析を試みた (run 1)。*rac-threo-3* と *rac-erythro-3* の平衡混合物 (6 : 4) のエタノールとヘプタン (1 : 2) の混合溶媒に、25 °C で等モルのイソプロピルアミンを添加した後、0 °C に冷却したところ、所望のジアステレオマー *rac-threo-3* が非常に高いジアステレオマー比 (>99 : 1) で得られた。しかしながら収率は 50% に留まった。低収率の原因としては、等モルのイソプロピルアミンを添加することで当該溶媒系への *rac-threo-3* の溶解度が増加した、あるいは溶解度のより高い化合物 (例えば *rac-threo-3* とイソプロピルアミンの付加物) が系中で生じた可能性が考えられる。触媒量のアミン添加でもエピマー化を加速させる効果が得られるとの仮説の下、0.1 当量の 1 級、

2 級、3 級アミンについてスクリーニングを行った (runs 2-4)。その結果、全ての種類のアミンについて、エタノールとヘプタン (1 : 2) の混合溶媒中 0 °C で効率的な異性化晶析に成功した。特にイソプロピルアミンとトリエチルアミンが効果的であり、単一のジアステレオマーとして *rac-threo-3* を高い収率 (94%) で与えた (runs 2, 4)。ジエチルアミンの場合、収率は改善されたがジアステレオマー比が低下した (run 3)。この結果は、結晶性のジアステレオマー混合物付加体 (*rac-threo-3* : *rac-erythro-3* : Et<sub>2</sub>NH=1 : 1 : 2) が所望のジアステレオマー結晶中に混入したことで説明される。このように異性化晶析の最適化検討を通じて、*rac-threo-3* の異性化晶析には触媒量のアミン添加が効果的であることを見出した。

Table 2-1 異性化晶析の最適化 <sup>a</sup>

$\left[ \begin{array}{ccc} & \xrightleftharpoons[\text{EtOH, heptane}]{\text{epimerization amine}} & \\ \text{rac-erythro-3} & & \text{rac-threo-3} \end{array} \right] \xrightarrow{\text{crystallization}} \text{rac-threo-3}$			
run	amine (equiv)	diastereomer ratio <sup>b</sup> ( <i>rac-threo-3</i> : <i>rac-erythro-3</i> )	yield (%)
1	<i>i</i> -PrNH <sub>2</sub> (1.0)	>99 : 1	50
2	<i>i</i> -PrNH <sub>2</sub> (0.1)	>99 : 1	94
3	Et <sub>2</sub> NH (0.1)	95 : 5	98
4	Et <sub>3</sub> N (0.1)	>99 : 1	94

<sup>a</sup> ジアステレオマー平衡混合物 (*rac-threo-3* : *rac-erythro-3*=6 : 4) を使用した

晶析条件 : 0 °C、1 時間 <sup>b</sup> ジアステレオマー比は HPLC で決定した

これらのアミンの中では、下記の理由からイソプロピルアミンが当該プロセスに最も適していると考えられた。イソプロピルアミンは直前の工程で試薬として使用されて **4** の構造に一旦組み込まれるが、**4** とニトロ酢酸エチルとの炭素－炭素結合形成反応において **4** から脱離し、副生物として再生される。*rac-threo-3* の異性化晶析には、この副生するイソ

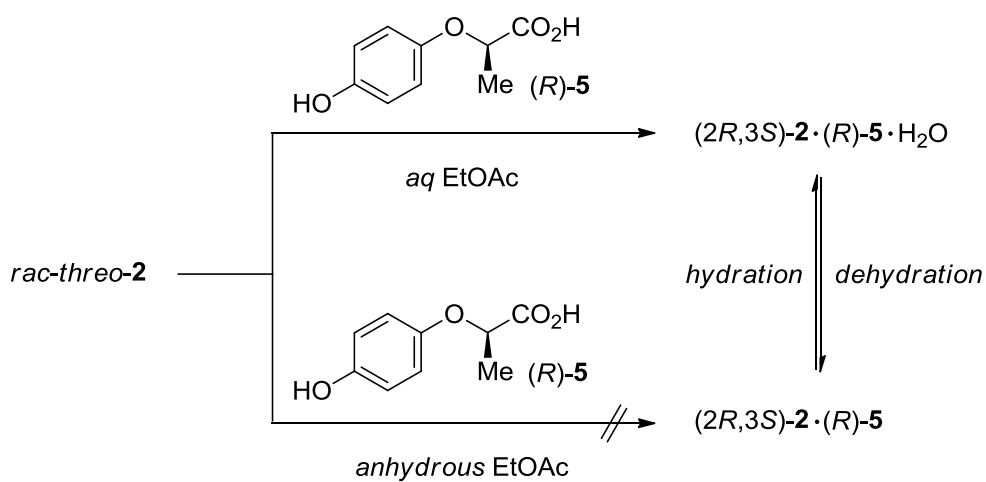
プロピルアミンを有効に再利用できる可能性があった。そこで当初実施していた反応混合物の水洗操作を省略し、反応混合物を直接減圧濃縮する方法に切り替えた。その結果、期待した通りイソプロピルアミンが触媒量残留し、アミンをわざわざ添加しなくとも残留イソプロピルアミンが効果的に異性化晶析を触媒し、非常に高いジアステレオマー比 (>99 : 1) を有する *rac-threo-3* を高い収率 (89%) で与えた。イソプロピルアミンの残留量は、反応混合物の連続濃縮によるトルエンからエタノールへの溶媒置換操作により、再現性よく約 0.1 当量のレベルにコントロールされた。

次の工程は *rac-threo-3* のニトロ基の還元による *rac-threo-2* の合成である。異性化晶析の基質はその本質からしてエピマー化しやすい特性を有するが、この特性が下流の工程で不利に働くことがある。実際、*rac-threo-3* を THF に溶解して Pd 触媒水素化反応に付したところ、塩基性条件はもとより、中性条件でもエピマー化が進行する問題が生じた（収率は最大で 60%程度に留まった）。*rac-threo-3* のエピマー化は酸性条件で抑制できるとの仮定の下、THF と酢酸の混合溶媒中、室温で亜鉛を用いてニトロ基の還元を試みた。その結果、期待した通りエピマー化を伴わずに所望の反応が進行し、非常に高いジアステレオマー比 (>99 : 1) を有する *rac-threo-2* を高い収率 (89%) で得ることに成功した。

#### 第4節 ジアステレオマー塩分別晶析による $\beta$ -メチルトリプトファンの光学分割

*rac-threo-2* のジアステレオ選択的合成法を確立できたことから、次に *rac-threo-2* の光学分割を検討した。まず種々の光学活性酸をスクリーニングして、*rac-threo-2* に対する光学分割の能力を評価した。その結果、農薬<sup>27</sup>や液晶<sup>28</sup>の原料に使用される安価な乳酸誘導体(*R*)-**5**が *rac-threo-2* に対して最も高い光学分割能力を有することを見出した。興味深いことに、(*2R,3S*)-**2** と (*R*)-**5** のジアステレオマー塩は含水酢酸エチル中では結晶化したが、無水酢酸エチル中では結晶化しなかった。得られた結晶を元素分析した結果、含水酢酸エチルから結晶化したジアステレオマー塩は一水和物(*2R,3S*)-**2**·(*R*)-**5**·H<sub>2</sub>O と判明した。一

水和物は減圧乾燥の過程で容易に無水物 $(2R,3S)\text{-}2\cdot(R)\text{-}5$ へと変換された (Scheme 2-3)。また逆に $(2R,3S)\text{-}2\cdot(R)\text{-}5$ を湿気に晒すと $(2R,3S)\text{-}2\cdot(R)\text{-}5\cdot\text{H}_2\text{O}$ へと変換された。 $(2R,3S)\text{-}2\cdot(R)\text{-}5\cdot\text{H}_2\text{O}$ の結晶は $(2R,3S)\text{-}2\cdot(R)\text{-}5$ の結晶と同一の粉末 X 線回折パターンを示し、示差走査熱量測定 (DSC) では 100 °C 付近に水分子の脱離と推察される吸熱ピークを示した。



Scheme 2-3  $(2R,3S)\text{-}2$  と  $(R)\text{-}5$  とのジアステレオマー塩の結晶化

$(2R,3S)\text{-}2$  と  $(R)\text{-}5$  とのジアステレオマー塩の結晶化には水分子の存在が必須なことが明らかとなったため、含水溶媒を用いて光学分割条件の最適化を行った (Table 2-2)。 $\text{rac-threo-}2$  に対して当量の  $(R)\text{-}5$  を用いると、含水アセトニトリルから、中程度の収率 (37%)、高い鏡像体過剰率 (99% *ee*) で所望のジアステレオマー塩が得られた (run 1)。 $(R)\text{-}5$  の使用量を 0.5 当量に減らすと、収率が 28%まで低下したものの鏡像体過剰率は変わらなかった (run 2)。分割剤を 0.5 当量まで減量できることは環境的視点および経済的側面ともに好ましく、 $(R)\text{-}5$  の使用量を 0.5 当量に絞って、晶析溶媒のスクリーニングを行った<sup>29</sup>。含水ケトン溶媒 (アセトン、2-ブタノン (MEK)、4-メチルペンタン-2-オン (MIBK)) が収率低下の傾向を示したのに対し (runs 3-5)、含水エステル溶媒 (酢酸

メチル、酢酸エチル、酢酸プロピル、酢酸ブチル) は収率増加の傾向を示した (runs 6-9)。特に 1%含水酢酸ブチルを用いた場合、最も高い resolvability ( $S = 0.85$ , 計算式は Table 2-2 の脚注参照) でジアステレオマー塩が得られた (run 9)。“resolvability ( $S$ )” は、種々の光学分割法において、その分割効率を表す指標として広く使用されている<sup>30</sup>。また (*R*)-**5** の使用量を 1 当量に戻したところ、resolvability に変動は見られず、(*R*)-**5** の使用量を 0.5 当量とすることの妥当性が検証された (run 10)。

**Table 2-2** *rac-threo-2* の光学分割の最適化

$\text{rac-threo-2} \xrightarrow[\text{2) drying}]{\text{1) (R)-5 (1.0 or 0.5 equiv) solv., H}_2\text{O (1\%)}} \text{(2R,3S)-2} \cdot \text{(R)-5}$					
run	( <i>R</i> )- <b>5</b> (equiv) <sup>a</sup>	solvent <sup>b</sup>	yield (%) <sup>c</sup>	enantiomeric excess (% ee) <sup>d</sup>	resolvability ( $S$ ) <sup>e</sup>
1	1.0	MeCN	37	99	0.73
2	0.5	MeCN	28	99	0.55
3	0.5	acetone	21	95	0.40
4	0.5	MEK	17	90	0.31
5	0.5	MIBK	15	83	0.26
6	0.5	MeOAc	39	83	0.65
7	0.5	EtOAc	41	91	0.75
8	0.5	PrOAc	39	90	0.70
9	0.5	BuOAc	46	92	0.85
10	1.0	BuOAc	46	92	0.85

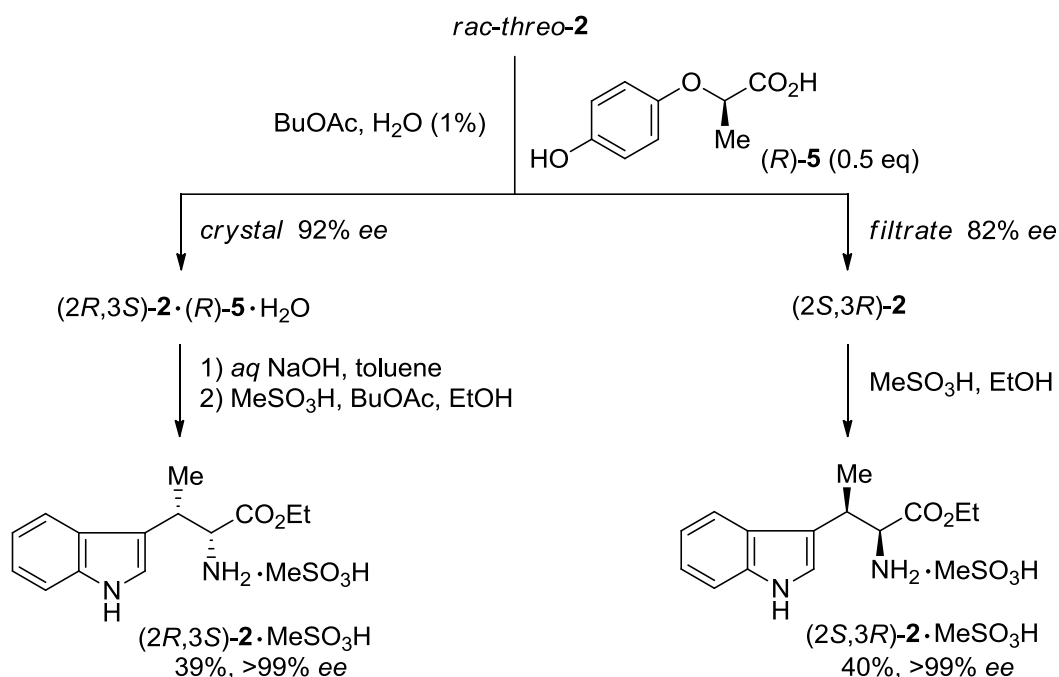
<sup>a</sup>*rac-threo-2* 基準 <sup>b</sup>水を 1%含む <sup>c</sup>乾燥後の (2*R*,3*S*)-**2**・(*R*)-**5** の単離収率 (*rac-threo-2* 基準)

<sup>d</sup>鏡像体過剰率はキラル HPLC で決定した <sup>e</sup> $S = \text{yield (\%)} \times 2 \times \text{enantiomeric excess (\% ee)} \times 10^{-4}$

鏡像体過剰率の向上については、(2*R*,3*S*)-**2** のメタンスルホン酸塩の晶析が有効なことを見出した (Scheme 2-4)。一連の分割操作 (ジアステレオマー塩分別晶析、ジアステレ



オマー塩の複分解、メタンスルホン酸塩の晶析) により、非常に高い鏡像体過剰率 (>99% ee) を有する(2*R*,3*S*)-**2**・MeSO<sub>3</sub>H が収率 39%で得られた。高い分割効率を実現できたことから、ジアステレオオマー塩分別晶析の母液に含まれるエナンチオマー(2*S*,3*R*)-**2** の鏡像体過剰率も高い値となった。また分割剤を 0.5 当量しか使用しないため、母液に残留する分割剤は少ない量であった(理論上<4%)。そこで 1 回のジアステレオオマー塩分別晶析により、所望の(2*R*,3*S*)-**2** に加えてエナンチオマー(2*S*,3*R*)-**2** を同時に得ることが可能と考え、ジアステレオオマー塩分別晶析の母液に直接メタンスルホン酸を添加することを試みた。その結果、非常に高い鏡像体過剰率 (>99% ee) を有する(2*S*,3*R*)-**2**・MeSO<sub>3</sub>H が収率 40%で得られた。ジアステレオオマー塩の複分解工程が不要であることを考慮すると、後者の方が効率的とも言える。最終的にこれら一連のプロセスを組み合わせることにより、わずか 0.5 当量の分割剤(*R*)-**5** を用いるだけで、一切のリサイクルプロセスを経ず、>99% ee の(2*R*,3*S*)-**2** と(2*S*,3*R*)-**2** とを同時に合計収率 79%で得る方法を確立できた。



Scheme 2-4 0.5 当量の分割剤により両エナンチオマーを同時に取得する分割法

## 第5節 非対称ウレア合成とペプチドカップリング反応の最適化

第4節で合成した高い鏡像体過剰率を有する鍵中間体(2*S*,3*R*)-**2**・MeSO<sub>3</sub>Hは、非対称ウレア合成反応、ペプチドカップリング反応を経て糖尿病治療薬**1**へと変換される(Scheme 2-5)。非対称ウレア合成反応については、数多くの方法が報告されている<sup>31-33</sup>。例えば *N*-ウレイドトリプトファンエステルは、*N*, *N*-カルボニルジイミダゾール (CDI) の二つのイミダゾリル基をトリプトファンエステルと含窒素化合物で連続的に置換する方法、または *N*, *N*-ジスクシンイミジルカーボナート (DSC) を用いた類似の反応により合成できる<sup>34,35</sup>。実際 DSC を用いた反応は *N*-ウレイド-β-メチルトリプトファン合成への適用例が知られているが<sup>8</sup>、筆者は大量入手が容易な CDI を用いて、(2*S*,3*R*)-**2**・MeSO<sub>3</sub>H と 4-フェニルピペリジン塩酸塩 **7** とのウレア合成反応を試みた<sup>36</sup>。当該反応をアセトニトリル中で行うと、2分子付加体**10**と対称ウレア体**11**が副生する問題が生じた(Figure 2-3)。溶媒を DMF に変更すると、**10** は生じなくなり主要な副生物は **11** だけとなった。反応液を HPLC 分析すると、(2*R*,3*S*)-**2** は定量的にイミダゾリド中間体**6**に変換されており、**11**の副生は弱酸性の基質**7**を添加した後に起こっていることが判明した。この解析結果を基に、基質**7**を加える前に塩基を添加することで**6**から(2*R*,3*S*)-**2**が再生することを防ぎ、延いては**11**の副生を抑制することを検討した。まず 2.2 当量のトリエチルアミンを添加すると、**11**の副生量は 7%程度であった。トリエチルアミンの量を 4.4 当量に増加すると、**11**の副生量は 3%にまで低減された。続くエステル基の加水分解反応までを one-pot で行い、生じたカルボン酸**8**を晶析すると、低減された量の**11**はほぼ全て除去された。その結果、>99%の品質(HPLC 分析) および>99.9% *ee*の鏡像体過剰率を有する**8**を 88%の収率で得ることができた。

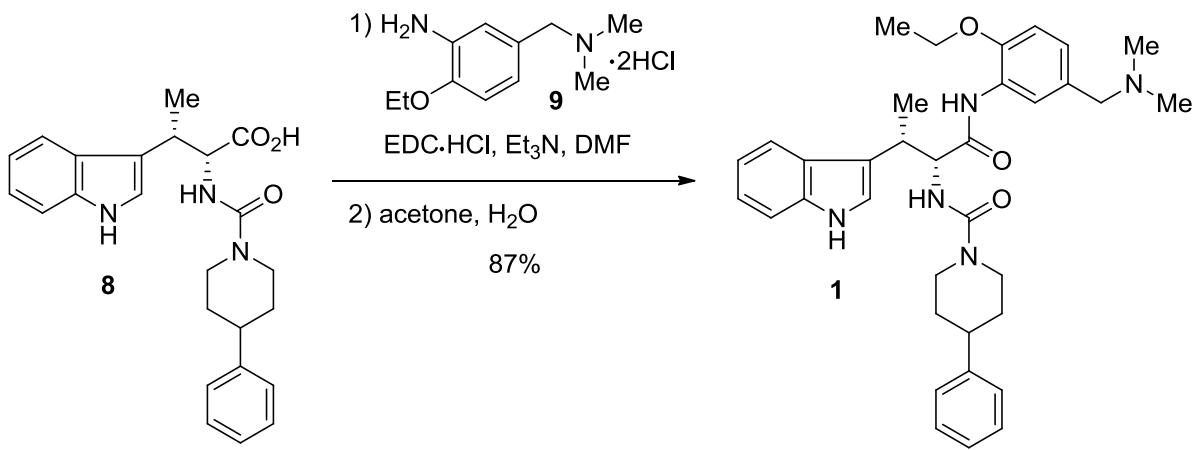
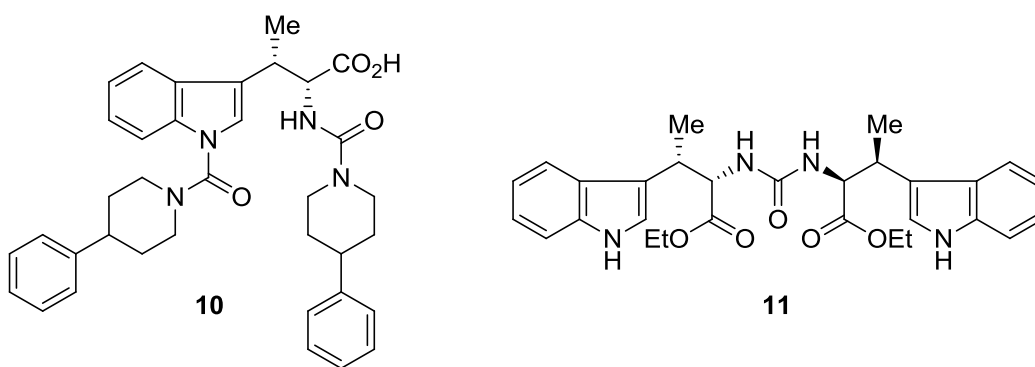
Scheme 2-5 鍵中間体(2*R*,3*S*)-2 から糖尿病治療薬 1 への変換

Figure 2-3 ウレア化反応で確認された副生物

*N*-ウレイド- $\alpha$ -アミノ酸とアミンとの縮合には、1-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]-3-エチルカルボジイミド (EDC) 等のカルボジイミドが媒介する典型的なペプチドカップリング反応が適用可能なことが知られている<sup>8,33-35</sup>。カルボン酸 **8** とアミン **9** との縮合には、DMF 中 EDC $\cdot$ HCl を用いる条件を適用した。二塩酸塩 **9** から生じる塩化水素の中和にはトリエチルアミンを使用した。一般的にペプチドカップリング反応を促進する目的で使用される 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (HOBt)<sup>37,38</sup> を添加せずとも、所望の反応は室温で 1 時間以内に完結し、目的とする **1** を与えた。主要な副生物は **1** のエピマー(**1*S*,2*S***)-**1** のみであった。HOBt はラセミ化を抑制することが知られているが<sup>37</sup>、HOBt を添加しても、また低温で反応を行っても、エピマー化は低減されなかった。そこで、トリエチルアミンがエピマー化の原因となっている可能性を考慮して<sup>39</sup>、トリエチルアミンの添加量を最適化した。二塩酸塩 **9** に対して 2 当量のトリエチルアミンを添加すると、2.6%のエピマーが副生した。トリエチルアミンの添加量を 1 当量まで減らすと、エピマーの副生量を 0.8%にまで低減することができた。反応の完結には少なくとも 1 当量のトリエチルアミンが必要であった。反応混合物に炭酸ナトリウム水溶液を添加して **1** を晶析すると、反応混合物中での組成を反映して 0.8%のエピマーを含有する結晶が得られた。エピマーの混入量をさらに低減すべく、**1** の再結晶法の検討を行った。その結果、アセトンと水 (6 : 4) の混合溶媒を用いるとエピマーが効果的に除去され、>99%の品質 (HPLC 分析) および>99.9% *ee* の鏡像体過剰率を有する **1** を 87%の収率で得られるようになった。最適化した条件はパイロットプラントでの製造に適用可能であり、当該プロセスを適用することにより、所望の品質を有する糖尿病治療薬 **1** をキログラムスケールで合成することが可能となった。

## 第6節 小括

第 2 章では、ペプチドミメティクスのアミノ酸残基の生物学的等価体としてよく用いられる、 $\beta$ -メチルトリプトファン(**2*R*,3*S***)-**2** および(**2*S*,3*R***)-**2** の実用的合成法の開発研究を

行った。 $\alpha$ -ニトロエステル **3** のアミン触媒による異性化晶析、続くエピマー化を伴わずに進行するニトロ基の還元により、>99% *dr* の品質を有する *rac-threo*-**2** をジアステレオ選択的に合成する方法を見出した。水の存在下、分割剤(*R*)-**5** を 0.5 当量のみ用いるジアステレオマー分別晶析、続くメタンスルホン酸塩の晶析により、>99% *ee* の品質を有する (*2R,3S*)-**2**・MeSO<sub>3</sub>H および(*2S,3R*)-**2**・MeSO<sub>3</sub>H を同時に得る方法を確立した。また、鍵中間体(*2R,3S*)-**2** の医薬品原薬 **1** への効率的な変換法の開発研究を行った。非対称ウレア **8** の合成では、イミダゾリド中間体 **6** から(*2R,3S*)-**2** の再生を抑制することで対称ウレア体 **11** の副生を低減できる合成法を開発した。最終工程となるペプチドカップリング反応では反応条件を最適化してエピマー化を最小限に抑え、高品質な糖尿病治療薬 **1** をキログラムスケールで合成できる方法を確立した。

## 第7節 実験の部

実験に使用した試薬および溶媒は、特に記載のない限り、既知化合物、市販の試薬および溶媒を精製せずに使用した。融点は Büchi Melting Point B-540 を用いて測定し、未補正である。IR スペクトルは Horiba FT-210 spectrometer (KBr 法またはヌジョール法) または Thermo Electron Nicolet 4700 spectrometer (ATR 法) を用いて測定した。NMR スペクトルは Bruker DPX-300 spectrometer を用いて測定した。テトラメチルシランを内部標準物質として使用し、ケミカルシフトは ppm、カップリング定数 (*J*) は Hz で記載した。比旋光度は JASCO DIP-370 polarimeter を用いて測定した。元素分析および質量分析は旧株式会社武田分析研究所(現株式会社住化分析センター)にて実施した。HPLC 分析には Hitachi L-7000 を使用し、特に記載のない限り、UV 検出器を用いて UV 254 nm で検出した。HPLC で決定した化合物の純度は、総ピーク面積に対するピーク面積百分率で記載した。合成した全ての化合物は、<sup>1</sup>H NMR スペクトルおよび HPLC 分析により 95% 以上の純度を有すると判断した。

#### *N*[1-(1*H*indol-3-yl)ethyl]propan-2-amine (**4**) の合成

インドール(200 g, 1.71 mol)と酢酸(800 mL)のトルエン(200 mL)溶液にイソプロピルアミン(111 g, 1.88 mol)と 90%アセトアルデヒド水溶液(87.6 g, 1.79 mol)を 0~10 °C で順次添加し、0~5 °C で 23 時間攪拌した。反応混合物に水(2.0 L)および酢酸エチル(280 mL)を添加して分液した。水層に 30%水酸化ナトリウム水溶液(1.85 L)を 0~10°C で滴下し、0~5 °C で 1 時間攪拌した。析出物をろ取し、水(1.0 L)で洗浄し、減圧乾燥して薄橙色結晶の **4** (230 g, 1.14 mol)を得た。収率 67%

Mp 115–117 °C; IR (ATR)  $\nu$  1451, 1097, 791, 732, 686  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI)  $m/z$  201 (MH<sup>+</sup>); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.25 (br s, 1H), 7.74 (d,  $J=7.8$  Hz, 1H), 7.38 (d,  $J=8.0$  Hz, 1H), 7.25–7.15 (m, 2H), 7.11 (d,  $J=2.4$  Hz, 1H), 4.30 (q,  $J=2.4$  Hz, 1H), 2.97–2.84 (m, 1H), 1.55 (d,  $J=6.6$  Hz, 1H), 1.44 (br s, 1H), 1.11 (t,  $J=5.3$  Hz, 6H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  136.7, 126.3, 122.0, 121.0, 120.9, 119.3, 119.2, 111.4, 47.5, 45.9, 23.8, 23.3, 23.0. Anal. Calcd for C<sub>13</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>: C, 77.18; H, 8.97; N, 13.85. Found: C, 77.06; H, 9.24; N, 13.83.

#### ethyl *threo*-3-(1*H*indol-3-yl)-2-nitrobutanoate (*rac*-*threo*-**3**) の合成

**4** (55.0 g, 272 mmol)のトルエン(220 mL)懸濁液にニトロ酢酸エチル(38.0 g, 289 mmol)を添加し、95 °C で 1 時間攪拌した。反応混合物を室温に冷却して減圧濃縮した。残渣にエタノール(110 mL)を添加して減圧濃縮した。当該操作を再度繰り返した。残渣にエタノール(110 mL)を添加し、60 °C に加温して溶解した。溶液を室温に冷却してヘプタン(220 mL)を滴下し、0 °C で 1 時間攪拌した。析出物をろ取し、氷冷したエタノールとヘプタンの 1 : 4 混液(220 mL)で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の *rac*-*threo*-**3** (66.9 g, 242 mmol, >99% *dr*) を得た。収率 89%

Mp 117–119 °C; IR (ATR)  $\nu$  3368, 1727, 1548, 1542, 742  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI)  $m/z$  277 (MH<sup>+</sup>); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  8.20 (br s, 1H), 7.66 (d,  $J=8.0$  Hz, 1H), 7.39 (d,

$J=8.0$  Hz, 1H), 7.27–7.15 (m, 2H), 7.10 (d,  $J=2.5$  Hz, 1H), 5.47(d,  $J=9.1$  Hz, 1H), 4.26–4.19 (m, 1H), 4.06–3.95 (m, 2H), 1.58 (d,  $J=7.0$  Hz, 3H), 0.98 (t,  $J=7.1$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  163.8, 136.2, 125.9, 122.6, 122.4, 120.0, 118.8, 113.9, 111.5, 92.9, 62.7, 33.2, 17.8, 13.5. Anal. Calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4$ : C, 60.86; H, 5.84; N, 10.14. Found: C, 60.93; H, 5.98; N, 10.27.

ジアステレオマー比は HPLC で決定した。カラム : Inertsil ODS-3 (4.6×150 mm)、移動相 : 0.05 M リン酸二水素カリウム水溶液 : アセトニトリル = 50 : 50、流量 : 1.0 mL/分、温度 : 25 °C、検出 : UV 254 nm

#### ethyl *threo*-2-amino-3-(1*H*indol-3-yl)butanoate (*rac*-*threo*-2) の合成

酢酸(10 mL)の THF (5 mL)溶液に亜鉛末(9.48 g, 145 mgatom)、*rac*-*threo*-3 (2.00 g, 7.24 mmol, >99% *dr*)と酢酸(5 mL)の THF (10 mL)溶液を 0~10 °C で順次添加し、室温に昇温して 18 時間攪拌した。不溶物をろ過して THF (10 mL)で洗浄した。ろ洗液を合わせて減圧濃縮した。残渣に酢酸エチル(20 mL)と 5%炭酸水素ナトリウム水溶液(80 mL)を添加して分液した。水層を酢酸エチル(10 mL)で抽出し、有機層を合わせて減圧濃縮した。残渣に酢酸エチル(2 mL)を加えて溶解し、ヘプタン(6 mL)を室温で滴下した。0 °C で 1 時間攪拌した後、析出物をろ取し、氷冷した酢酸エチルとヘプタンの 1 : 3 混液(3 mL)で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の *rac*-*threo*-2 (1.59 g, 6.46 mmol, >99% *dr*)を得た。収率 89%

Mp 82–83 °C; IR (ATR)  $\nu$  1736, 1217, 1157, 1115, 744  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI)  $m/z$  247 (MH)<sup>+</sup>;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.33 (br s, 1H), 7.47 (d,  $J=7.8$  Hz, 1H), 7.37 (d,  $J=7.9$  Hz, 1H), 7.25–7.13 (m, 2H), 7.06 (d,  $J=2.1$  Hz, 1H), 4.25–4.17 (m, 2H), 3.94 (d,  $J=4.1$  Hz, 1H), 3.72–3.67 (m, 1H), 1.40 (br s, 1H), 1.36 (d,  $J=7.1$  Hz, 3H), 1.27 (t,  $J=7.1$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  163.8, 136.2, 125.9, 122.6, 122.4, 112.0, 118.8, 113.9, 111.5, 92.9, 62.7, 33.2, 17.8, 13.5. Anal. Calcd for  $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_2$ : C, 68.27; H, 7.37; N, 11.37. Found: C, 68.19; H, 7.40; N, 11.60.

ジアステレオマー比はキラル HPLC で決定した。カラム: Chiralcel OJ-R (4.6×150 mm)、移動相: 0.05 M リン酸二水素カリウム水溶液(pH 7.0): アセトニトリル=70:30、流量: 0.5 mL/分、温度: 15 °C、検出: UV 254 nm

**(*R*)-2-(4-hydroxyphenoxy)propanoic acid - ethyl (2*R*,3*S*)-2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)-butanoate (1:1) hydrate ((2*R*,3*S*)-2•(*R*)-5•H<sub>2</sub>O) の合成**

(*R*)-5 (1.85 g, 10.2 mmol)と水(0.5 mL)の酢酸ブチル(50 mL)溶液に *rac*-*threo*-2 (5.00 g, 20.3 mmol)を添加し、室温で4時間攪拌した。析出物をろ取し、酢酸ブチル(10 mL)で洗浄し、通気乾燥して白色結晶の(2*R*,3*S*)-2•(*R*)-5•H<sub>2</sub>O (4.20 g, 9.41 mmol, 92% *ee*)を得た。収率 46%

Mp 133–134 °C; IR (ATR)  $\nu$  1747, 1590, 1476, 1209, 749 cm<sup>-1</sup>; MS (ESI) *m/z* 247 (MH)<sup>+</sup>; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> +11.1 (*c* 1.02, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  10.85 (s, 1H), 7.51 (d, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.33 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.14 (d, *J*=2.3 Hz, 1H), 7.06–6.94 (m, 1H), 6.70–6.62 (m, 1H), 4.57 (q, *J*=6.7 Hz, 1H), 3.98–3.90 (m, 2H), 3.63 (d, *J*=6.8 Hz, 1H), 3.39–3.30 (m, 1H), 1.42 (d, *J*=6.8 Hz, 3H), 1.29 (d, *J*=7.1 Hz, 3H), 1.00 (t, *J*=7.1 Hz, 3H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  174.4, 174.3, 151.9, 151.0, 136.8, 126.8, 123.1, 121.4, 118.9, 118.7, 116.6, 116.4, 116.1, 111.9, 73.3, 60.5, 59.4, 35.0, 19.0, 16.4, 14.3. Anal. Calcd for C<sub>23</sub>H<sub>28</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>•H<sub>2</sub>O: C, 61.87; H, 6.77; N, 6.27. Found: C, 61.74; H, 6.77; N, 6.20.

鏡像体過剰率はキラル HPLC で決定した。カラム: Chiralcel OJ-RH (4.6×150 mm)、移動相: 0.05 M リン酸二水素カリウム水溶液(pH 6.5): アセトニトリル=75:25、流量: 0.5 mL/分、温度: 15 °C、検出: UV 254 nm

絶対配置はエステル基を加水分解したサンプルと既知の  $\beta$ -メチルトリプトファンとをキラル HPLC で比較して決定した<sup>40</sup>。カラム: Chirobiotic R (4.6×250 mm)、移動相: 水: メタノール=70:30、流量: 0.75 mL/分、温度: 15 °C、検出: UV 254 nm



**ethyl (2*R*,3*S*)-2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)butanoate methanesulfonate**

**((2*R*,3*S*)-2•MeSO<sub>3</sub>H) の合成**

トルエン (5.0 mL) と 1 M 水酸化ナトリウム水溶液 (5.0 mL) の混液に (2*R*,3*S*)-2•(*R*)-5•H<sub>2</sub>O (1.00 g, 2.24 mmol, 92% *ee*) を添加して攪拌した。分液して有機層を水 (5.0 mL) で洗浄し、減圧濃縮した。残渣に酢酸ブチル (5.0 mL) とエタノール (0.5 mL) を添加して溶解し、メタンサルホン酸 (215 mg, 2.68 mmol) を室温で滴下した。室温で 2 時間攪拌した後、析出物をろ取り、酢酸ブチルとエタノールの 10 : 1 混液 (1.0 mL) で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の (2*R*,3*S*)-2•MeSO<sub>3</sub>H (648 mg, 1.89 mmol, >99% *ee*) を得た。収率 84%

Mp 129–130 °C; IR (KBr)  $\nu$  3298, 1743, 1520, 1205, 1184 cm<sup>-1</sup>; MS (FAB) *m/z* 247 (MH)<sup>+</sup>; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> +6.1 (*c* 0.97, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  11.08 (s, 1H), 8.32 (s, 1H), 7.51 (d, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.39 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.22 (d, *J*=2.3 Hz, 1H), 7.10 (t, *J*=7.5 Hz, 1H), 7.01 (t, *J*=7.4 Hz, 1H), 4.16 (d, *J*=6.5 Hz, 1H), 4.04–3.92 (m, 2H), 3.67–3.58 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 1.45 (d, *J*=7.2 Hz, 3H), 0.96 (d, *J*=7.1 Hz, 3H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  169.8, 137.2, 126.8, 124.5, 122.1, 119.4, 119.1, 113.5, 112.5, 62.4, 58.1, 40.6, 33.1, 17.3, 14.4. Anal. Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S: C, 52.62; H, 6.48; N, 8.18; S, 9.36. Found: C, 52.44; H, 6.44; N, 8.04; S, 9.33.

**ethyl (2*S*,3*R*)-2-amino-3-(1*H*-indol-3-yl)butanoate methanesulfonate**

**((2*S*,3*R*)-2•MeSO<sub>3</sub>H) の合成**

(*R*)-5 (1.85 g, 10.2 mmol) と水 (0.5 mL) の酢酸ブチル (50 mL) 溶液に *rac*-threo-2 (5.00 g, 20.3 mmol) を添加し、室温で 4 時間攪拌した。析出した結晶をろ過し、酢酸ブチル (10 mL) で洗浄した。合わせたろ洗液にエタノール (5.0 mL) とメタンサルホン酸 (980 mg, 12.2 mmol) を室温で順次滴下した。室温で 2 時間攪拌した後、析出物をろ取り、酢酸ブチルと

エタノールの 10 : 1 混液(11 mL)で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の(2*S*,3*R*)-**2**・MeSO<sub>3</sub>H (2.76 g, 8.06 mmol, >99% *ee*)を得た。収率 40%

Mp 129–130 °C; IR (ATR)  $\nu$  1742, 1517, 1163, 1044, 743 cm<sup>-1</sup>; MS (ESI) *m/z* 247 (MH)<sup>+</sup>; [ $\alpha$ ]<sub>20D</sub> –6.5 (*c* 1.03, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  11.08 (s, 1H), 8.27 (s, 1H), 7.50 (d, *J*=7.8 Hz, 1H), 7.38 (d, *J*=8.0 Hz, 1H), 7.21 (d, *J*=2.4 Hz, 1H), 7.09 (t, *J*=7.1 Hz, 1H), 7.00 (t, *J*=7.1 Hz, 1H), 4.15 (d, *J*=6.5 Hz, 1H), 4.04–3.93 (m, 2H), 3.66–3.57 (m, 1H), 2.34 (s, 3H), 1.44 (d, *J*=7.2 Hz, 3H), 0.95 (d, *J*=7.1 Hz, 3H); <sup>13</sup>C NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  169.5, 136.9, 126.5, 124.2, 121.7, 119.1, 118.7, 113.2, 112.2, 62.0, 57.7, 40.3, 32.8, 17.0, 14.0. Anal. Calcd for C<sub>15</sub>H<sub>22</sub>N<sub>2</sub>O<sub>5</sub>S: C, 52.62; H, 6.48; N, 8.18; S, 9.36. Found: C, 52.59; H, 6.44; N, 8.23; S, 9.43.

**(2*R*,3*S*)-3-(1*H*-indol-3-yl)-2-[(4-phenylpiperidine-1-carbonyl)aminol]-butanoic acid (**8**)**  
の合成

CDI (2.09 g, 12.9 mmol)の DMF (12 mL)溶液に(2*R*,3*S*)-**2**・MeSO<sub>3</sub>H (4.00 g, 11.7 mmol)の DMF (12 mL)溶液を 0 °C で添加し、0 °C で 1 時間攪拌した。トリエチルアミン (5.21 g, 51.5 mmol)と 4-フェニルピペリジン塩酸塩(2.55 g, 12.9 mmol)を 0~10 °C で順次添加し、室温で 2.5 時間攪拌した。反応混合物に水(24 mL)と酢酸エチル(24 mL)を添加して分液した。水層を酢酸エチル(24 mL)で抽出した。有機層を合わせて 1 M 塩酸(24 mL)で 2 回、水(24 mL)で 2 回洗浄し、減圧濃縮した。残渣にエタノール(24 mL)を添加して減圧濃縮した。残渣にエタノール(40 mL)を加えて溶解し、4 M 水酸化ナトリウム水溶液(8 mL)を滴下して室温で 4 時間攪拌した。4 M 塩酸(12 mL)を滴下して 0 °C で 1.5 時間攪拌した後、析出物をろ取し、氷冷したエタノールと水の 2 : 1 混液(12 mL)で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の **8** (4.17 g, 10.3 mmol, >99.9% *ee*)を得た。収率 88%

Mp 162–167 °C (decomp.); IR (KBr)  $\nu$  1736, 1581, 1512, 1194, 754 cm<sup>-1</sup>; MS (FAB) *m/z* 406 (MH)<sup>+</sup>; [ $\alpha$ ]<sub>20D</sub> +42.0 (*c* 1.04, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  12.23 (br s,

1H), 10.82 (s, 1H), 7.56 (d,  $J=7.7$  Hz, 1H), 7.35–7.27 (m, 3H), 7.20–7.16 (m, 4H), 7.08–7.03 (m, 2H), 6.29 (d,  $J=8.5$  Hz, 1H), 4.50 (dd,  $J=8.2, 7.3$  Hz, 1H), 4.11 (t,  $J=14.3$  Hz, 2H), 3.59 (t,  $J=7.1$  Hz, 1H), 2.79–2.62 (m, 3H), 1.69 (d,  $J=12.1$  Hz, 2H), 1.49–1.34 (m, 5H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz, DMSO- $d_6$ )  $\delta$  174.9, 158.2, 146.8, 137.0, 129.3, 127.5, 127.4, 127.0, 123.2, 121.6, 119.4, 119.1, 117.2, 112.3, 59.6, 45.3, 45.2, 42.7, 33.7, 33.6, 33.1, 18.3. Anal. Calcd for  $\text{C}_{24}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_3 \cdot 0.1\text{H}_2\text{O}$ : C, 70.77; H, 6.73; N, 10.32. Found: C, 70.75; H, 6.85; N, 10.27.

鏡像体過剰率はキラル HPLC で決定した。カラム : Chiralcel OJ-RH (4.6×150 mm)、移動相 : 過塩素酸水溶液(pH 2.5) : メタノール = 25 : 75、流量 : 1.0 mL/分、温度 : 25 °C、検出 : UV 254 nm

***N*[(1*R*,2*S*)-1-({5-[(dimethylamino)methyl]-2-ethoxyphenyl}amino-carbonyl)-2-(1*H*-indol-3-yl)propyl]-4-phenyl-1-piperidinecarboxamide (1) の合成**

8 (700 g, 1.73 mol) と 9 (462 g, 1.73 mol) の DMF (3.45 L) 溶液にトリエチルアミン(175 g, 1.73 mol) と EDC·HCl (397 g, 2.07 mol) を室温で順次添加して 1 時間攪拌した。反応混合物に 2 M 水酸化ナトリウム水溶液(1.73 L) と 5%炭酸ナトリウム水溶液(1.73 L) を順次添加した。室温で 1.5 時間攪拌した後、析出物をろ取り、水(6.9 L) で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の crude-1 (1004 g, 1.73 mol) を得た。水(1.0 L) とアセトン(9.0 L) の混液に crude-1 (1004 g, 1.73 mol) を添加して溶解した。不溶物をろ過してアセトンと水の 10 : 1 混液(3.3 L) で洗浄した。合わせたろ洗液に水(6.7 L) を室温で滴下した。室温で 4 時間攪拌した後、析出物をろ取り、アセトンと水の 1:1 混液(4.0 L) で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の 1 (880 g, 1.51 mol, >99.9% ee) を得た。収率 87%

Mp 164–165 °C; IR (KBr)  $\nu$  3361, 1666, 1219, 733  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (FAB)  $m/z$  582 (MH) $^{+}$ ;  $[\alpha]^{20}_{\text{D}} +4.0$  ( $c$  1.01, MeOH);  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  8.50 (br s, 1H), 8.25 (d,  $J=1.9$  Hz, 1H), 8.05 (s, 1H), 7.79 (d,  $J=7.6$  Hz, 1H), 7.37–7.06 (m, 8H), 6.96 (dd,  $J=8.3, 2.0$  Hz,

1H), 6.73 (d,  $J=8.3$  Hz, 1H), 5.43 (d,  $J=7.6$  Hz, 1H), 4.94 (t,  $J=7.4$  Hz, 1H), 4.17 (d,  $J=13.2$  Hz, 1H), 4.04 (d,  $J=13.3$  Hz, 1H), 3.98–3.82 (m, 2H), 3.75–3.66 (m, 1H), 3.36 (s, 2H), 2.95–2.79 (m, 2H), 2.71–2.61 (m, 1H), 2.46–2.31 (m, 1H), 2.24 (s, 6H), 1.84 (d,  $J=12.0$  Hz, 2H), 1.73–1.51 (m, 5H), 1.26 (t,  $J=7.0$  Hz, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  170.5, 157.6, 146.8, 145.9, 136.9, 131.6, 128.9, 127.4, 127.2, 127.0, 126.8, 124.7, 122.4, 121.1, 119.9, 119.7, 117.2, 111.7, 111.1, 64.6, 64.3, 60.7, 45.6, 45.2, 45.1, 43.0, 35.2, 33.4, 33.3, 18.2, 15.1. Anal. Calcd for  $\text{C}_{35}\text{H}_{43}\text{N}_5\text{O}_3$ : C, 72.26; H, 7.45; N, 12.04. Found: C, 71.97; H, 7.39; N, 11.95.

鏡像体過剰率はキラル HPLC で決定した。カラム : Chiralcel OD-RH (4.6×150 mm)、移動相 : 0.5%のトリエチルアミンを含有する 0.05 M リン酸二水素カリウム水溶液(pH 7.0) : アセトニトリル=50 : 50、流量 : 0.5 mL/分、温度 : 20 °C、検出 : UV 254 nm

## 第8節 参考文献

- (1) Hruby, V. J. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 4215-4231.
- (2) Hruby, V. J. *Acc. Chem. Res.* **2001**, *34*, 369-397.
- (3) Gibson, S. E.; Guillo, N.; Tozer, M. J. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 585-615.
- (4) Erchegeyi, J.; Waser, B.; Schaer, J. C.; Cescato, R.; Brazeau, J. F.; Rivier, J.; Reubi, J. C. *J. Med. Chem.* **2003**, *46*, 5597-5605.
- (5) Haskell-Luevano, C.; Toth, K.; Boteju, L.; Job, C.; Castrucci, A. M. L.; Hadley, M. E.; Hruby, V. J. *J. Med. Chem.* **1997**, *40*, 2740-2749.
- (6) He, Y. B.; Huang, Z.; Raynor, K.; Reisine, T.; Goodman, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1993**, *115*, 8066-8072.
- (7) Hang, Z.; He, Y. B.; Raynor, K.; Tallent, M.; Reisine, T.; Goodman, M. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 9390-9401.

- (8) Abe, H.; Matsunaga, S.; Takekawa, S.; Watanabe, M. *PCT Int. Appl.* WO2004/046107, **2004**.
- (9) Yang, L.; Berk, S. C.; Rohrer, S. P.; Monsley, R. T.; Guo, L.; Underwood, D. J.; Arison, B. H.; Birzin, E. T.; Hayes, E. C.; Mitra, S. W.; Parmar, R. M.; Cheng, K.; Wu, T.-J.; Butler, B. S.; Foor, F.; Pasternak, A.; Pan, Y.; Silva, M.; Freidinger, R. M.; Smith, R. G.; Chapman, K.; Schaeffer, J. M.; Patchett, A. A. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **1998**, *95*, 10836-10841.
- (10) Rohrer, S. P.; Birzin, E. T.; Monsley, R. T.; Berk, S. C.; Hutchins, S. M.; Shen, D.-M.; Xiong, Y.; Hayes, E. C.; Parmar, R. M.; Foor, F.; Mitra, S. W.; Degrado, S. J.; Shu, M.; Klopp, J. M.; Cai, S.-J.; Blake, A.; Chan, W. W. S.; Pasternak, A.; Yang, L.; Patchett, A. A.; Smith, R. G.; Chapman, K. T.; Schaeffer, J. M. *Science* **1998**, *282*, 737-740.
- (11) Snyder, H. R.; Matteson, D. S. *J. Am. Chem. Soc.* **1957**, *79*, 2217-2221.
- (12) Behforouz, M.; Zarrinmayeh, H.; Ogle, M. E.; Riehle, T. J.; Bell, F. W. *J. Heterocycl. Chem.* **1988**, *25*, 1627-1632, and references cited therein.
- (13) Nemes, C.; Jeannin, L.; Sapi, J.; Laronze, M.; Seghir, H.; Auge, F.; Laronze, J. *Tetrahedron* **2000**, *56*, 5479-5492.
- (14) Corey, E. J.; Loh, T. P.; Roper, T. D.; Azimioara, M. D.; Noe, M. C. *J. Am. Chem. Soc.* **1992**, *114*, 8290-8292.
- (15) Chakravarty, P. K.; Chen, M. H.; Nargung, R.; Patchett, A. A.; Tata, J. R.; Wu, M. T.; Yang, L. *PCT Int. Appl.* WO1997/036873, **1997**.
- (16) Cyr, L. V.; Newton, M. G.; Phillips, R. S. *Bioorg. Med. Chem.* **1999**, *7*, 1497-1503.
- (17) Boteju, L. W.; Wegner, K.; Qian, X.; Hruby, V. J. *Tetrahedron* **1994**, *50*, 2391-2404.
- (18) Bruncko, M.; Crich, D. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 4239-4249.
- (19) Shapiro, G.; Buechler, D.; Marzi, M.; Schmidt, K.; Gomez-Lor, B. *J. Org. Chem.* **1995**, *60*, 4978-4979.

- (20) Han, G.; Lewis, A.; Hruby, V. J. *Tetrahedron Lett.* **2001**, *42*, 4601-4603.
- (21) Johnson, N. B.; Lennon, I. C.; Moran, P. H.; Ramsden, J. A. *Acc. Chem. Res.* **2007**, *40*, 1291-1299.
- (22) Roff, G. J.; Liloid, R. C.; Turner, N. J. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 4098-4099.
- (23) Hoerrner, R. S.; Askin, D.; Volante, R. P.; Reider, P. J. *Tetrahedron Lett.* **1998**, *39*, 3455-3458.
- (24) Brands, K. M. J.; Davies, A. J. *Chem. Rev.* **2006**, *106*, 2711-2733.
- (25) Anderson, N. G. *Org. Process Res. Dev.* **2005**, *9*, 800-813.
- (26) AFC 反応の副反応経路に関する報告例 : Shirakawa, S.; Kobayashi, S. *Org. Lett.* **2006**, *8*, 4939.
- (27) Lin, Y.-L.; Huang, J.-L.; Wu, C.-S.; Liu, H.-G.; Yang, D.-Y. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* **2002**, *12*, 1709-1713.
- (28) Senthil, S.; Srividhya, D.; Manjunathan, S.; Thirumaran, S.; Wu, S.-L. *J. Mol. Structure* **2008**, *877*, 50-55.
- (29) 0.5 当量の分割剤を使用したジアステレオマー塩分別晶析の報告例 : (a) Senuma, M.; Shibasaki, M.; Nishimoto, S.; Shibata, K.; Okamura, K.; Date, T. *Chem. Pharm. Bull.* **1989**, *37*, 3204-3208; (b) Brandt, J.; Gais, H.-J. *Tetrahedron: Asymmetry* **1997**, *8*, 909-912.
- (30) Kozma, D. In *CRC Handbook of Optical Resolutions via Diastereomeric Salt Formation*, CRC Press LLC: Boca Raton, **2002**.
- (31) Katritzky, A. R.; Pleyne, D. P. M.; Yang, B. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 4155-4158, and references cited therein.
- (32) Zhang, X.; Rodrigues, J.; Evans, L.; Hinkle, B.; Ballantyne, L.; Pena, M. *J. Org. Chem.* **1997**, *62*, 6240-6243.

- (33) Konda, Y.; Takahashi, Y.; Arima, S.; Sato, N.; Takeda, K.; Dobashi, K.; Baba, M.; Harigaya, Y. *Tetrahedron* **2001**, *57*, 4311-4321.
- (34) Yang, L.; Guo, L.; Pasternak, A.; Mosley, R.; Rohrer, S.; Birzin, E.; Foor, F.; Cheng, K.; Schaeffer, J.; Patchett, A. A. *J. Med. Chem.* **1998**, *41*, 2175-2179.
- (35) Qi, H.; Shah, S. K.; Cascieri, M. A.; Sadowski, S. J.; MaCcross, M. *Bioorganic Med. Chem. Lett.* **1998**, *8*, 2259-2262.
- (36) Dunn, P. J.; Hoffmann, W.; Kang, Y.; Mitchell, J. C.; Snowden, M. J. *Org. Process Res. Dev.* **2005**, *9*, 956-961.
- (37) Lygo, B. In *Encyclopedia of Reagents for Organic Synthesis*; Paquette, L. A. Ed.; Wiley: Chichester, 1995; Vol. 4, pp. 2752-2755.
- (38) Chan, L. C.; Cox, B. G. *J. Org. Chem.* **2007**, *72*, 8863-8869.
- (39) 過剰の塩基がペプチドカップリング反応におけるラセミ化に与える影響: Carpino, L. A.; El-Faham, A. *J. Org. Chem.* **1994**, *59*, 695-698.
- (40) Peter, A.; Torok, G.; Armstrong, D. W.; Toth, G.; Tourwe, D. *J. Chromatogr. A* **2000**, *904*, 1-15.

### 第3章 アモルファスとして開発されるペプチドミメティクス医薬品のプロセス研究

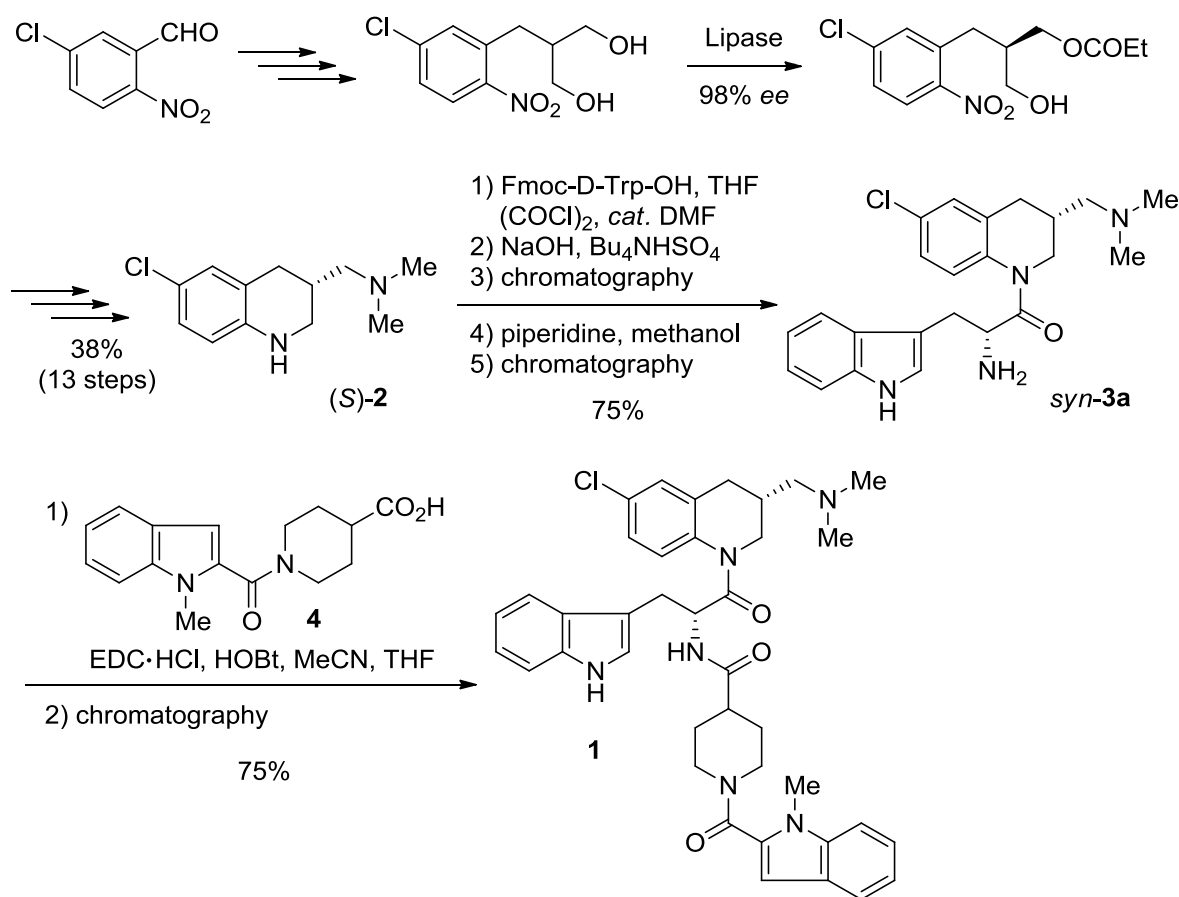
#### 第1節 序論

近年、ドラッグデリバリーシステムの効率改善を目的に、結晶性の化合物をアモルファス（非晶質）として開発するケースが増加している<sup>1</sup>。このような化合物に加えて、結晶化が困難な化合物についてもアモルファスとして開発されることがある。第1章第1節で述べたように、ペプチド構造を有するペプチドミメティクス医薬品は、その構成成分であるアミノ酸を修飾することにより、基のペプチドに比べてより好ましい薬学的特性を獲得できるようデザインされる。しかし残念なことに、そのようなデザインがプロセス化学の見地からは望ましくない物理化学特性に繋がってしまうことが多々ある。例えばペプチドミメティクスは、アモルファスまたは非常に取り扱いにくい固体物性の結晶として得られることがある。医薬品の開発候補化合物（およびその塩）が結晶（または共結晶）として得られない場合、アモルファスとして開発を進めざるを得ない。このような場合、医薬品原薬製造の最終工程で一般的に用いられる晶析精製法ではなく、それ以外の精製法で高品質な医薬品原薬を製造する必要性が生じ、それゆえアモルファスの精製法開発がプロセス研究における主要な課題となる。

第1章第4節で述べたように、アモルファス医薬品の精製にはクロマトグラフィーが用いられることがある。一般に医薬品製造プロセスにクロマト精製を組み込む際には、最適な分離モードを選択するよう工夫されている。例えば逆相高速液体クロマトグラフィー（RP-HPLC）については、近年の技術進歩により大量製造に適用された例が報告されているが、カラムへのチャージ量を増加することに難がある等の理由から、限定的な適用範囲に留まっている<sup>2-4</sup>。現状 RP-HPLC は、少量の化合物を高度に精製する目的で使われることが多い。イオン交換クロマトグラフィーは、酸性、塩基性、または両性の解離性官能基を有する化合物に対して幅広く適用可能である。固定相（イオン交換樹脂）の使用量が比較的少なく、再使用が可能である等の利点を有し、ペプチドの精製等に広く用いられている。ゲル浸透クロマトグラフィー（GPC）もまた固定相の再使用が可能であり、異なる



分子サイズのペプチド不純物を長鎖ペプチド等から分離する方法によく用いられている。他の再使用可能な固定相としては、合成吸着剤がペプチドのクロマト精製によく用いられる。例えば、デカペプチドであるリュプロレリン (Figure 1-1) は精製が難しい医薬品原薬として知られるが、上記の再使用可能な樹脂等を用いた種々の分離モードのクロマトグラフィーを組み合わせることで精製され、樹脂の無駄な廃棄を抑えて、高品質な医薬品として製造されている<sup>5</sup>。



Scheme 3-1 糖尿病治療薬 1 の創薬化学合成法

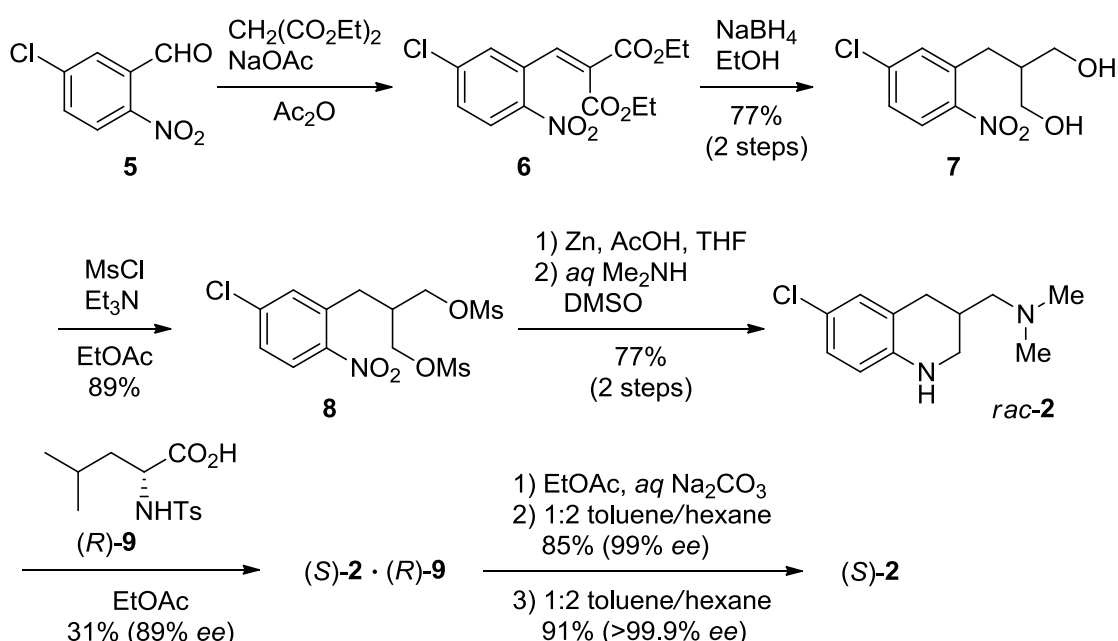
テトラペプチド構造を有するペプチドミメティクス糖尿病治療薬 **1** は、比較的高いガラス転位点 (103~105 °C) を有する安定なアモルファスとして得られた<sup>6,7</sup>。創薬化学の合成では、酵素を用いた立体選択的エステル化反応によりキラルなテトラヒドロキノリン中

間体(**S**)-**2**を得る方法が採用された (Scheme 3-1)。中間体(**S**)-**2**は、*N*-Fmoc-D-トリプトファンとのペプチドカップリング反応、脱 Fmoc 反応により鍵中間体 *syn*-**3a** へと変換され、続くカルボン酸 **4** とのペプチドカップリング反応により、数グラムスケールで **1** が合成された。アモルファス **1** の精製には、数グラムスケールに適したシリカゲルカラムクロマトグラフィーおよびアルミナカラムクロマトグラフィーが適用された。

武田薬品工業株式会社で実施された糖尿病治療薬の開発プログラムの一環として、数キログラムの医薬品原薬 **1** を供給すべく、その大量製造法を開発する必要があった。ペプチドミメティクス **1** のプロセス研究における最大の課題は、アモルファスである **1** の精製法開発にあった。これに加え、鍵中間体 *syn*-**3a** の精製法についても主要な検討課題であった。医薬品原薬 **1** と同様にして *syn*-**3a** も結晶化せず、アモルファスとしてしか得られなかったためである。中間体(**S**)-**2** より下流の **2** 工程に関して予備的な検討を行ったところ、*syn*-**3a** の合成工程では、Fmoc 基に由来する副生物を含めて多くの副生物が生じることが判明した。これとは対照的に、**1** の合成工程では比較的綺麗に反応が進行した。この予備検討の結果を基に、可能な限り高純度な *syn*-**3a** を用いて、最適化された反応条件で最終工程を行うことができれば、アモルファス **1** のクロマト精製は省略できる可能性があると考えた。そこでまず、高純度なアモルファス *syn*-**3a** を得るために、全工程を通して一度だけクロマト精製を行う、シングルクロマトプロセスの構築を試みた。具体的には、以下に示す精製法の開発戦略によりプロセス研究を行った。1) 再使用可能な樹脂を用いたスケールアップ可能なクロマトグラフィーにより *syn*-**3a** を可能な限り高純度に精製する。2) 最終工程の反応条件を最適化して副生物の生成量を最小限に抑制する。3) 液相抽出法のみでの精製により高品質なアモルファス原薬 **1** を得る。またさらに筆者は、次世代の製造法として、塩基性化合物である *syn*-**3a** の精製に酸-塩基を用いた液相抽出法を適用することで、全工程を通してクロマト精製を行わない、クロマトフリープロセスの開発研究を行った。

## 第2節 キラルなテトラヒドロキノリン中間体の合成

酵素を用いた立体選択的エステル化反応を経由する創薬化学の合成法では、キラルなテトラヒドロキノリン中間体(*S*)-**2**を合成するのに13工程を要した(Scheme 3-1)。そこで、より短工程な合成法を開発する目的で、種々の合成ルートについて探索研究を行った。その結果、4工程の化学変換で中間体 *rac*-**2** を合成し、ジアステレオマー塩分別晶析による光学分割で(*S*)-**2**を得る方法を見出した(Scheme 3-2)。

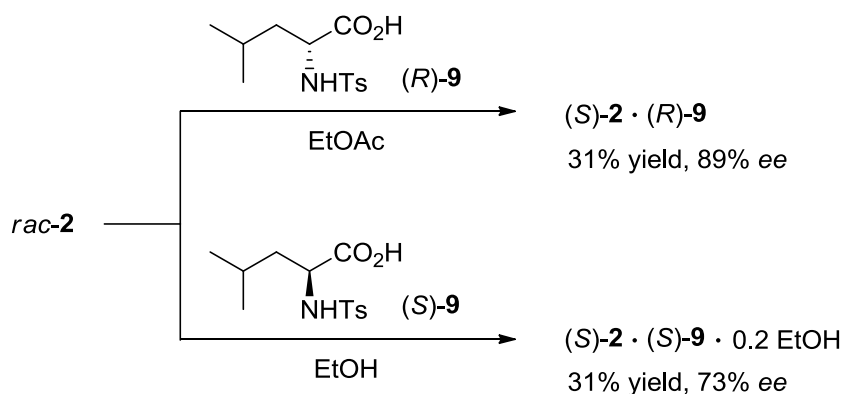


Scheme 3-2 キラルなテトラヒドロキノリン中間体(*S*)-**2**の新規合成法

中間体 *rac*-**2** の合成は以下のようにして行った。まず、農薬の原料として使用される大量入手可能な二置換ベンズアルデヒド **5** とマロン酸ジエチルとの Knoevenagel 縮合により **6** を得た<sup>8,9</sup>。 $\alpha, \beta$ -不飽和ジエステル **6** は油状物であったため、液相抽出精製のみ行って次工程に使用した。次いで、水素化ホウ素ナトリウムを用いてエトキシカルボニル基と共役二重結合とを同時に還元し、2工程収率77%で飽和ジオール **7** を得た<sup>10,11</sup>。その後、両ヒドロキシ基をメタンスルホニル化し、ジメシラート **8** を収率89%で合成した。最後に酢

酸中、亜鉛を用いてニトロ基を還元し、系中で生じた分子内閉環体にジメチルアミンを反応させ、目的とする *rac*-**2** を 2 工程収率 77% で得た。

次に *rac*-**2** のジアステレオマー塩分別晶析による光学分割を検討した。まず種々の光学活性酸をスクリーニングして、*rac*-**2** に対する光学分割能力を評価した。その結果、*N*-トシルロイシン **9** が最も高い分割能力を有することを見出だした。興味深いことに、使用する溶媒の種類により、異なる立体化学のジアステレオマー塩が優先的に晶析した。例えば分割剤に (*R*)-**9** を用いた場合、エタノール溶液からは (*S*)-**2**・(*R*)-**9** が、酢酸エチル溶液からは (*R*)-**2**・(*R*)-**9** が優先的に結晶化した。単離結晶の <sup>1</sup>H NMR を測定すると次のことが分かった。分割剤 (*R*)-**9** を酢酸エチル中で用いた場合、(*S*)-**2**・(*R*)-**9** が無溶媒和物として得られる。一方、分割剤 (*S*)-**9** をエタノール中で用いた場合、(*S*)-**2**・(*S*)-**9** が 0.2 エタノール溶媒和物として得られる (Scheme 3-3) <sup>12</sup>。最適化した晶析条件では、89% *ee* の (*S*)-**2**・(*R*)-**9** が収率 31% で得られ、また 73% *ee* の (*S*)-**2**・(*S*)-**9**・0.2EtOH が収率 31% で得られた。これらの結果からは、(*S*)-**9** よりも (*R*)-**9** の方が高い分割効率を与えた。鏡像体過剰率のさらなる向上については、トルエンとヘキサン (1 : 2) の混合溶媒から (*S*)-**2** を晶析する方法が有効なことを見出した。ジアステレオマー塩の複分解および (*S*)-**2** の晶析により、高い鏡像体過剰率 (99% *ee*) を有する (*S*)-**2** が収率 85% で得られた。ここで考慮すべきは、アモルファス原薬 **1** の製造プロセスには、キラルな中間体 (*S*)-**2** の導入以降、晶析精製を適用できる工程がないという点である。そのためとりわけエピマー等の立体異性体の除去が困難になる。この観点から、高い鏡像体過剰率の (*S*)-**2** を得ることが高品質な医薬品原薬 **1** を製造するための鍵となった。そこで、99% *ee* の (*S*)-**2** を再結晶してさらに鏡像体過剰率を向上させて >99.9% *ee* としたものを次工程に使用した。



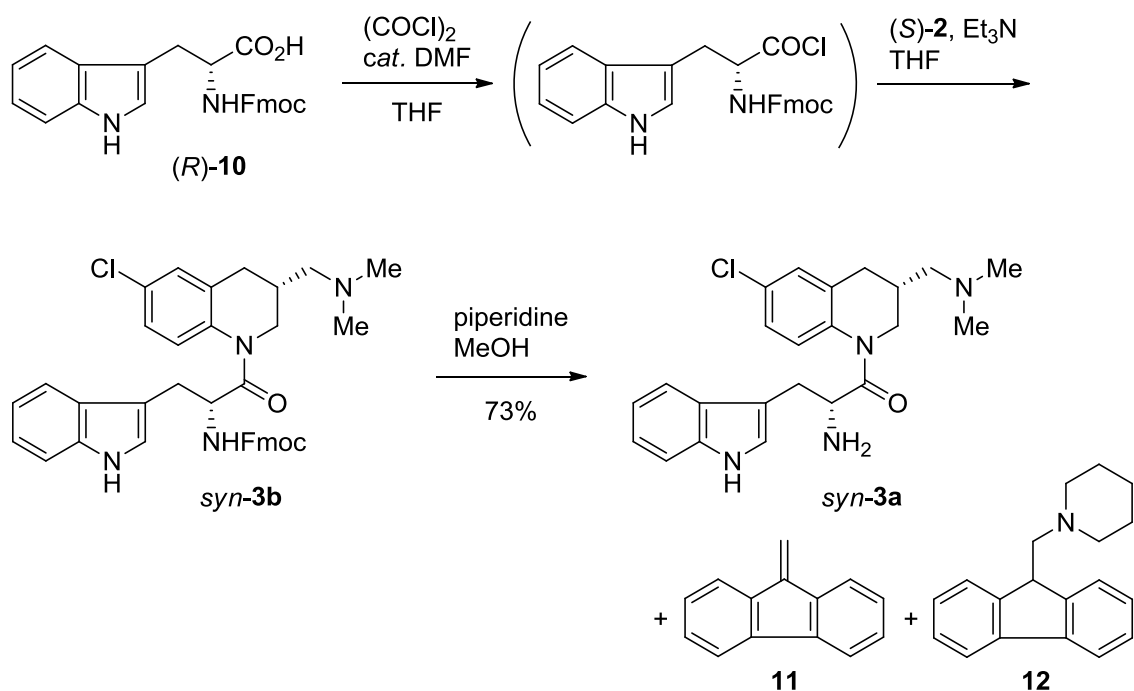
**Scheme 3-3** *rac*-**2** のジアステレオマー塩分別晶析法による光学分割

中間体(*S*)-**2** の新規合成法では、潜在的な爆発危険性を有するニトロ化合物を取り扱うため、その危険性について評価した。四つのニトロ化合物について示差走査熱量測定 (DSC) を行ったところ、これらは大きな総発熱量 (**5**, 1513 J/g; **6**, 363 J/g; **7**, 755 J/g; **8**, 1091 J/g) を有するものの、発熱開始温度 (**5**, 218 °C; **6**, 328 °C; **7**, 302 °C; **8**, 252 °C) が総じて高く、特に顕著な危険性を発現するリスクは低いことを確認した。

### 第3節 鍵中間体の合成

次の検討課題は、(*S*)-**2** と *N*-Fmoc-D-トリプトファンとのペプチドカップリング反応、ならびにその成績体 *syn*-**3b** の脱 Fmoc 反応の改良である (Scheme 3-4)。反応を良好に進行させることは、延いてはアモルファス *syn*-**3a** の精製操作にかかる負担の低減に繋がる。当該反応には、酸クロリドのような強力な活性化が必要であった。これはテトラヒドロキノリン環 6 位のクロロ基に起因して、(*S*)-**2** の環内窒素原子の求核性が低いためと推測される<sup>13</sup>。実際に(*S*)-**2** と窒素を保護した各種 D-トリプトファン誘導体 (*N*-Fmoc-D-Trp-OH, *N*-Boc-D-Trp-OH, *N*-Cbz-D-Trp-OH) とを縮合剤 1- [3- (ジメチルアミノ) プロピル] -3-エチルカルボジイミド塩酸塩 (EDC·HCl) を用いて反応さ

せても目的のアミドは得られなかった。**D**-トリプトファンのアミノ基の保護には、酸クロリドに由来する酸性条件での安定性を考慮して **Fmoc** 基を選択した<sup>14</sup>。**Fmoc** 基は温和な塩基性条件で脱保護可能な点も有利と考えた。**THF** 中、0.1 当量の相間移動触媒（硫酸テトラブチルアンモニウム）存在下、1.1 当量の水酸化ナトリウム（ペレット状の固体）を用いる条件を試みたところ、*syn*-**3b** が収率 87% で得られた（Table 3-1, run 1）。しかしながら、当該反応条件は収率の再現性が低かった。強塩基性の水酸化ナトリウムが酸クロリド中間体の加水分解を招くことが、再現性が低い原因と推察された。そこで弱塩基性の 3 級アミンを用いて以下の検討を行った。まず 1.1 当量のジイソプロピルエチルアミンを用いたところ、*syn*-**3b** の収率が大幅に低下した（run 2）。アミンの添加量について検討した結果、約 1.5 当量に増量すると収率が 86% まで増加した（run 3）。当該反応条件では、(*R*)-**10** の量を 3.0 当量から 1.5 当量に半減することが可能であった（run 4）。ジイソプロピルエチルアミンをより安価なトリエチルアミンに代えても、同様に高い収率 (90%) で *syn*-**3b** が得られた（run 5）。このようにして最適化した反応条件では、*syn*-**3b** が再現性よく得られるようになった。



Scheme 3-4 鍵中間体 *syn*-**3a** の合成

**Table 3-1** 中間体(*S*)-**2** と(*R*)-**10** のペプチドカップリング反応の最適化 <sup>a</sup>

run	( <i>R</i> )- <b>10</b> (equiv)	base (equiv)	yield of <i>syn</i> - <b>3b</b> (%)
1 <sup>b</sup>	3.0	NaOH (1.1)	87
2	3.0	<i>i</i> -Pr <sub>2</sub> NEt (1.1)	57
3	3.0	<i>i</i> -Pr <sub>2</sub> NEt (1.6)	86
4	1.5	<i>i</i> -Pr <sub>2</sub> NEt (1.4)	87
5	1.5	Et <sub>3</sub> N (1.4)	90

<sup>a</sup>(COCl)<sub>2</sub> (1.2 当量)を使用した <sup>b</sup>Bu<sub>4</sub>NHSO<sub>4</sub> (0.1 当量)を添加した

次いで *syn*-**3b** を液相抽出により精製した後、さらなる精製を行うことなく、メタノール中ピペリジンを用いる条件で *syn*-**3b** の脱 Fmoc 化反応を行った (Scheme 3-4)。Fmoc 基はペプチドカップリング反応の際には非常に上手く機能したが<sup>14</sup>、脱保護反応の過程で生じるジベンゾフルベン **11** およびそのピペリジン付加物 **12** の除去が困難なことが問題になった。上述した(*R*)-**10** の使用量の半減により、**11** や **12** の副生量も半減されることになったが、依然として *syn*-**3a** には、約 1.5 当量相当の **11** や **12**、約 0.5 当量相当の D-トリプトファン (過剰分の(*R*)-**10** に由来)、および多種類の微量不純物が多量含まれたことから、第 4 節で述べる *syn*-**3a** の精製法開発に注力した。

#### 第4節 陽イオン交換クロマトグラフィーによる鍵中間体の精製

第 1 節に記載した精製法の開発戦略に基づき、再使用可能なイオン交換樹脂を用いて、アモルファス *syn*-**3a** の大量製造に適用可能な精製法の開発研究を行った。まず、陽イオン交換樹脂、キレート樹脂、合成吸着剤を用いて分離モードをスクリーニングしたところ、陽イオン交換クロマトグラフィー (CEC) が、主要な副生物 **11** と **12** の除去に最も効果的であった。特に、メタクリル樹脂をマトリックスとする弱酸性陽イオン交換樹脂 DIAION® WK100 (多孔質構造を改良することで反応速度を向上させた高吸着能樹脂) が最も効率的な固定相であった。

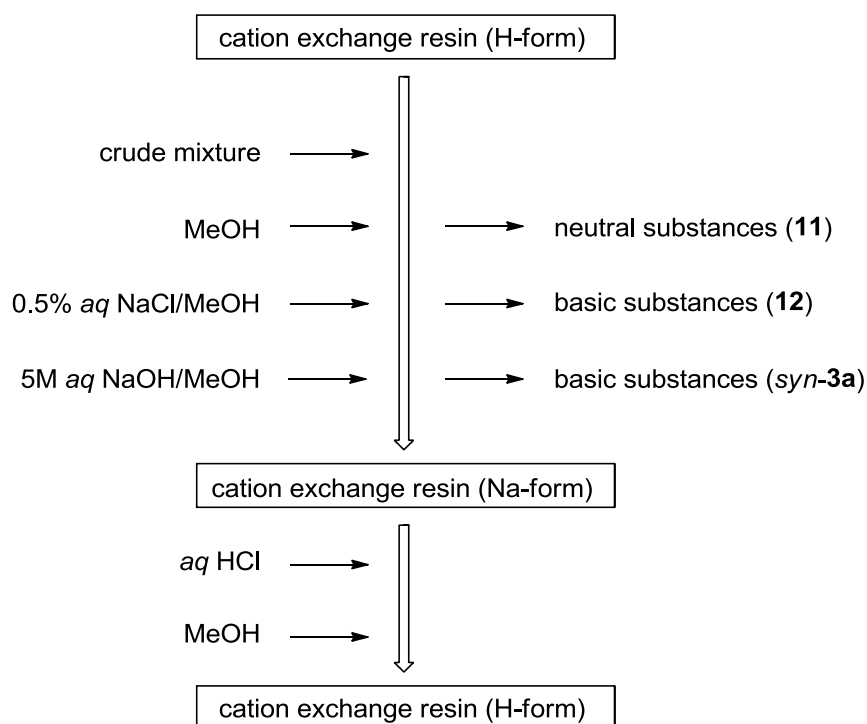


Figure 3-1 CEC による *syn-3a* の精製法の概念図

当該陽イオン交換クロマトグラフィーのメソッド開発では、共に 3 級アミンである *syn-3a* と **12** とをどのようにして分離するかが最大の課題であった。弱酸性陽イオン交換樹脂では、塩化ナトリウム水溶液のような中性領域の溶離液でもイオン交換反応が徐々に進行するが、そのような条件で基質を選択的にイオン交換できることを期待して、溶離液中のナトリウム濃度について検討を行った。その結果、5%塩化ナトリウム水溶液とメタノール（20 : 80）の混合溶媒を用いると *syn-3a* と **12** が共に溶出されるのに対し、0.5%塩化ナトリウム水溶液とメタノール（20 : 80）の混合溶媒では **12** を選択的に溶出できることを見出した。この知見を活用して、Figure 3-1 に図示するアモルファス *syn-3a* の大量製造に適用可能な精製法を確立した。具体的な操作法を以下に記す。1) H 型に調整した DIAION® WK100 に精製前の *syn-3a* を含むメタノール溶液をチャージする（*syn-3a* および塩基性不純物が樹脂に吸着される）、2) メタノールで展開して中性の不純物（**11** やトリプトファン等）を溶出分離する、3) 0.5%塩化ナトリウム水溶液とメタノール（20 : 80）



の混合溶媒で展開して塩基性の不純物 (**12** や他の微量含まれる不純物) を溶出分離する、  
4) 5 M 水酸化ナトリウム水溶液とメタノール (20 : 80) の混合溶媒で展開して樹脂を Na 型に変換し *syn-3a* を溶出する。このメソッドにより、有効分画液から 97% の純度 (HPLC 分析) を有するアモルファス *syn-3a* を収率 73% ((*S*)-**2** 基準) で得る方法を確立できた。当該手法がキログラムスケールでの製造に適用可能であることについては、実際にパイロットプラントで *syn-3a* の合成ならびに精製を行って検証した (実験項に代表例を記載した)。その際、DIAION® WK100 の再使用についても検討を行い、塩酸およびメタノールを順次通液することで容易に H 型に再生できること、また少なくとも 3 回は再使用可能であることを実証した。

#### 第5節 鍵中間体の塩の結晶化ならびに塩晶析法による精製

上述した陽イオン交換クロマトグラフィーを確立する以前は、*syn-3a* またはその塩を結晶化する試みは全て失敗に終わっていた。しかしながら、陽イオン交換クロマトグラフィーにより精製した高品質な *syn-3a* を結晶化検討に使用することで、安定なリン酸塩結晶の単離に成功した。単結晶 X 線構造解析によりその組成を確認したところ、結晶格子中に 4 分子の *syn-3a*、1 分子のリン酸、2 分子の水が含まれていることが判明した (Figure 3-2)。二つの水分子の内、一つはリン酸に配位しており、生じた五つの水素原子の内、四つが 4 分子の *syn-3a* の窒素原子と相互作用していた。残る一つの水素原子はもう一つの水分子と作用していた。このようにして判明したリン酸塩 *syn-3a* · 0.25H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> · 0.5H<sub>2</sub>O の組成を考慮して晶析条件を最適化したところ、含水エタノール中、0.25 当量のリン酸を用いる条件が最も高い収率を与えた。具体的には、上述した陽イオン交換クロマトグラフィーに次いでリン酸塩を晶析することにより、>99% の純度 (HPLC 分析) を有する *syn-3a* · 0.25H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> · 0.5H<sub>2</sub>O が収率 64% ((*S*)-**2** 基準) で得られた。

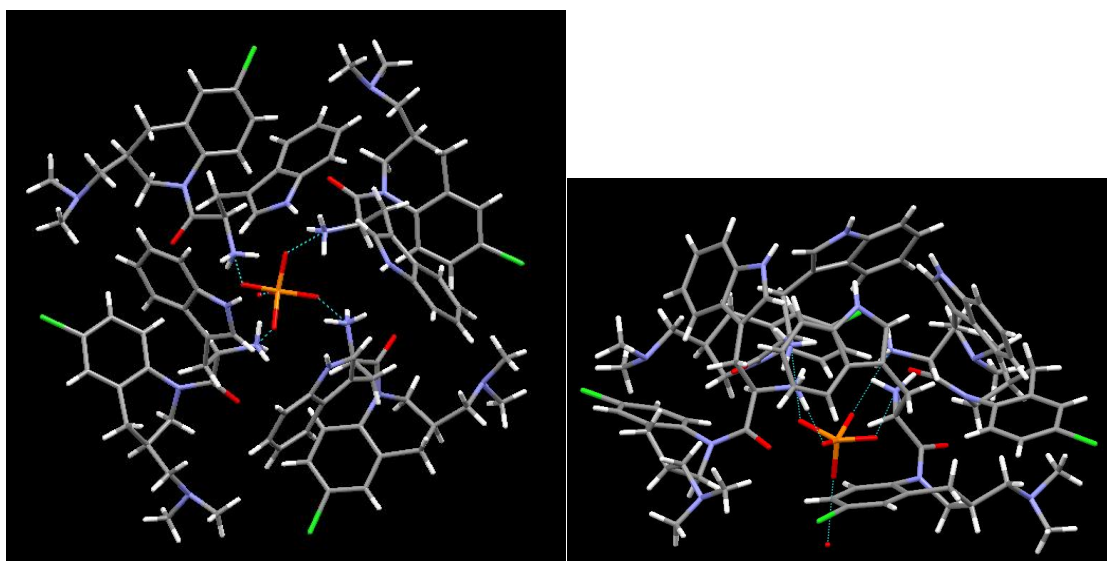
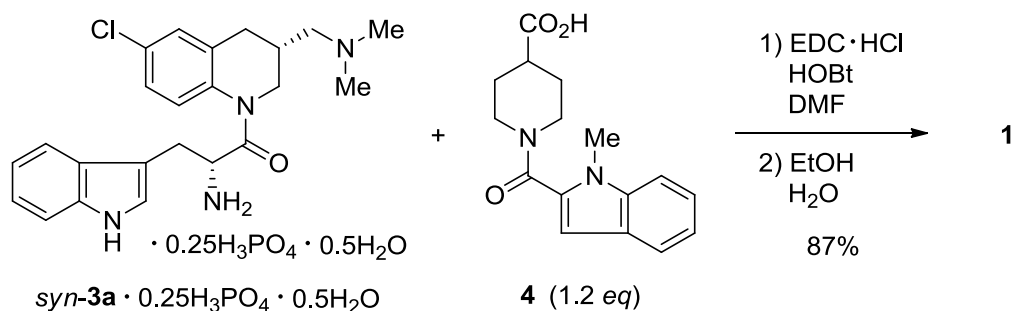


Figure 3-2 鍵中間体のリン酸塩  $\text{syn-3a} \cdot 0.25\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 0.5\text{H}_2\text{O}$  の単結晶 X 線構造解析

## 第6節 原薬製造工程の最適化

鍵中間体  $\text{syn-3a}$  は、カルボン酸 **4** とのペプチドカップリングにより糖尿病治療薬 **1** へと変換される (Scheme 3-5)。カルボン酸 **4** は、市販の 1-メチルインドリル-2-カルボン酸とイソニペコチン酸エステルとのペプチドカップリング、続くエステルの加水分解により合成した。第 1 節に記載した精製法の開発戦略に基づき、アモルファス原薬 **1** の精製工程にかかる負担を未然に防ぐため、 $\text{syn-3a}$  と **4** との反応条件を最適化して、副生物を可能な限り低減することを検討した。まず縮合剤をスクリーニングしたところ、塩化オキザリル、塩化ピバロイル、クロロ炭酸エチル、 $N, N$ -カルボニルジイミダゾール (CDI) を用いた場合、多くの副生物が生じた。一方、1-[3-(ジメチルアミノ)プロピル]-3-エチルカルボジイミド塩酸塩 ( $\text{EDC} \cdot \text{HCl}$ ) と 1-ヒドロキシベンゾトリアゾール (HOBt) の組み合わせを用いた場合、反応が短時間に完結して比較的高い品質で **1** が得られた。後述する **1** の液相抽出精製法の開発研究において、アモルファス  $\text{syn-3a}$  とカルボン酸 **4** の除去効率について比較したところ、 $\text{syn-3a}$  の方が **1** との分離が困難であることが判明した。そこで  $\text{syn-3a}$  をペプチドカップリング反応で完全に消費できるよう、**4** を

1.2 当量用いる条件を最適とした。この反応条件の設定により、過剰量添加して未反応のまま残存した **4** が **1** の主要な不純物となった。

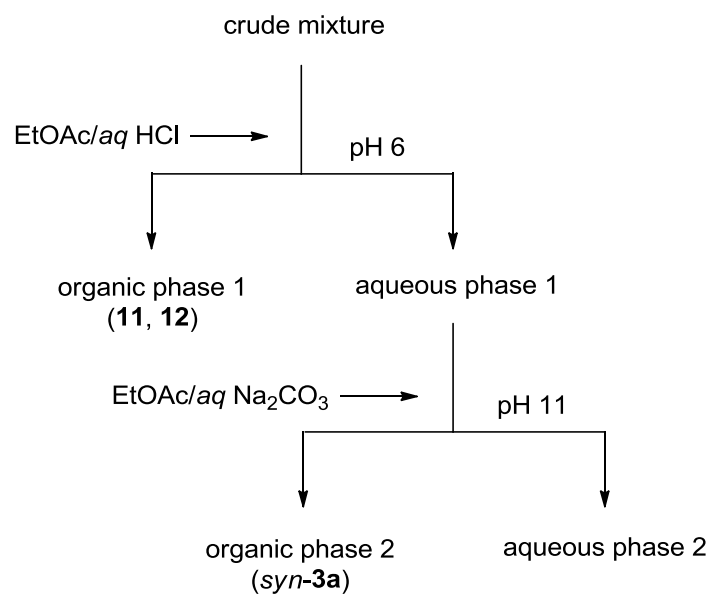
Scheme 3-5 鍵中間体 *syn*-3a・0.25H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>・0.5H<sub>2</sub>O から糖尿病治療薬 1 への変換

最後に、第 1 節に記載した精製法の開発戦略に基づき、クロマトグラフィーを用いないアモルファス原薬 **1** の精製方法を検討した。具体的には、主要な不純物 **4** を除去すべく塩基性水溶液による抽出洗浄について検討した。その結果、酢酸エチルおよび 5%炭酸カリウム水溶液を用いて反応混合物を分液洗浄する方法が、**4** の除去に効果的であることを見出した。酢酸エチル抽出層はそのまま活性炭処理することが可能であり、微量含まれる不純物は活性炭処理により低減された。また、医薬品原薬 **1** のアモルファスパウダーを、特殊な設備や方法を用いずに得る方法についても検討した。その結果、50 倍容量の精製水に、**1** の 10 倍容量のエタノール溶液を室温で滴下することで、所望のアモルファスパウダーを得る方法を開発することができた。

さらに、最適化した条件を適用して実際にパイロットプラントで**1**の製造を行い、新規合成法がキログラムスケールの製造に適用可能であることを検証した。その結果、>98%の品質（HPLC 分析）および>99.9% *ee*の鏡像体過剰率を有する**1**が 87%の収率で得られた。これを以って、アモルファス医薬品**1**のシングルクロマトプロセスによる大量製造法を確立するに至った。

## 第7節 アモルファス医薬品のクロマトフリープロセス

鍵中間体 *syn-3a* の塩の結晶化に成功したことは、クロマトフリープロセスを確立する可能性を高めることとなった。そこで、*syn-3a* の液相抽出とリン酸塩の晶析とを組み合わせた精製法について検討した。陽イオン交換クロマトグラフィーの基本コンセプトをまねて、弱酸性水溶液を用いた液相抽出を試みた。その結果、Figure 3-3 に示す方法を見出すに至った。すなわち、まず水層を pH 6 に調整して酢酸エチルで分液洗浄することにより、主要な不純物 **11** および **12** を有機層に分配して *syn-3a* から効果的に分離した。次いで水層を pH 11 に調整して *syn-3a* を酢酸エチルで抽出することにより、水層に分配された D-トリプトファンから *syn-3a* を効果的に分離した。想定範囲内ではあるが、微量含まれる多種類の不純物を液相抽出で徹底的に除去することは困難であった。そのため当該精製法で得られる *syn-3a* の品質はわずか 88% (HPLC 分析) に留まった。しかしながら、含水エタノールからリン酸塩を晶析し、次いで酢酸エチルとヘキサン (3 : 1) の混合溶媒を用いてスラリー洗浄することにより、その品質を大幅に向上できることを見出した。具体的には、>99%の品質 (HPLC 分析) を有する *syn-3a*  $\cdot$  0.25H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>  $\cdot$  0.5H<sub>2</sub>O が 68%の収率 ((S)-2 基準) で得られた。当該精製法で得られた *syn-3a*  $\cdot$  0.25H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>  $\cdot$  0.5H<sub>2</sub>O を次工程に使用すると、従来と同等な品質でアモルファス原薬 **1** が得られた。これを以って、アモルファス医薬品 **1** のクロマトフリープロセスによる次世代の製造法を確立するに至った。



**Figure 3-3** 酸-塩基を用いた液相抽出法による *syn-3a* の精製法の概念図

陽イオン交換クロマトグラフィーを用いる *syn-3a* の第一世代の精製法（シングルクロマトプロセス）では、樹脂の再使用が可能であったものの、大量の溶媒（約 900 L/ kg, *syn-3a* 基準）を必需とした。一方、酸-塩基を用いる液相抽出法をベースとした第二世代の精製法（クロマトフリープロセス）では、より少ない溶媒量（約 25 L/ kg, *syn-3a* 基準）で同等な品質の *syn-3a* を得られるようになった。このようにして、酸-塩基を用いる液相抽出法をベースとした精製法は、廃溶媒の削減に非常に多きな効果をもたらし、環境に配慮した製造法の確立へと繋がった。

## 第8節 小括

第 3 章では、アモルファスとして開発が進められるペプチドミメティクス糖尿病治療薬 **1** の大量製造法の開発研究を行った。プロセス研究を進める上で最大の課題となったのは、医薬品原薬 **1** と鍵中間体 *syn-3a* の固体物性であった。これらの化合物は共にアモルファ

スであり、特に大量製造時に精製が困難であった。まずは再使用可能な陽イオン交換樹脂を用いて *syn-3a* のクロマトグラフィー精製を行う、シングルクロマトプロセスを開発した。当該プロセスにより、>98% (HPLC 分析) の純度を有するアモルファス原薬 **1** をキログラムスケールで合成することに成功した。次いで、*syn-3a* の陽イオン交換クロマトグラフィー精製を、酸-塩基を用いた液相抽出ならびに *syn-3a*•0.25H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>•0.5H<sub>2</sub>O の晶析をベースとする精製法に置き換えてクロマトフリープロセスを開発した。当該プロセスにより、従来とほぼ同等な品質のアモルファス原薬 **1** が得られることを確認した。後者は廃棄物の削減に大きく貢献し、よりグリーンな製法を確立することができた。

## 第9節 実験の部

実験に使用した試薬および溶媒は、特に記載のない限り、既知化合物、市販の試薬および溶媒を精製せずに使用した。融点は Büchi Melting Point B-540 を用いて測定し、未補正である。IR スペクトルは Horiba FT-210 spectrometer (KBr 法またはヌジョール法) または Thermo Electron Nicolet 4700 spectrometer (ATR 法) を用いて測定した。NMR スペクトルは Bruker DPX-300 spectrometer を用いて測定した。テトラメチルシランを内部標準物質として使用し、ケミカルシフトは ppm、カップリング定数 (*J*) は Hz で記載した。比旋光度は JASCO DIP-370 polarimeter を用いて測定した。元素分析および質量分析は旧株式会社武田分析研究所 (現株式会社住化分析センター) にて実施した。HPLC 分析には Hitachi L-7000 を使用し、特に記載のない限り、UV 検出器を用いて UV 254 nm で検出した。HPLC で決定した化合物の純度は、総ピーク面積に対するピーク面積百分率で記載した。合成した全ての化合物は、<sup>1</sup>H NMR スペクトルおよび HPLC 分析により 95% 以上の純度を有すると判断した。

### 2-(5-chloro-2-nitrobenzyl)propane-1,3-diol (**7**) の合成

5 (39.8 kg, 214.5 mol)とマロン酸ジエチル(34.4 kg, 214.8 mol)の無水酢酸(86.8 kg, 850.2 mol)溶液に酢酸ナトリウム(26.4 kg, 321.8 mol)を添加し、90~95 °C で 5.5 時間攪拌した。室温に冷却して水(119.4 kg)を添加し、1 時間攪拌した。水(119.4 kg)とトルエン(206.6 kg)を添加して分液した。水層をトルエン(206.6 kg)で抽出した。有機層を合わせて水(477.6 kg)で 3 回、飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(425.9 kg)で 2 回、5%食塩水(417.9 kg)で 2 回洗浄し、減圧濃縮した。残渣にエタノール(158.0 kg)を添加して減圧濃縮した。当該操作を再度繰り返した。残渣にエタノール(126.6 kg)を添加して溶解した。他の反応器にエタノール(379.3 kg)を仕込み、窒素雰囲気下、水素化ホウ素ナトリウム(24.4 kg, 645.0 mol)を-10~0 °C で少量ずつ添加した。前者のエタノール溶液を後者のエタノール懸濁液に滴下し、室温で 2.5 時間攪拌した。0 °C に冷却して 6 M 塩酸(206.6 kg)を滴下し、室温に昇温して水(238.8 kg)を添加した。室温で 1.5 時間攪拌した後、30%水酸化ナトリウム水溶液(48.1 kg)を用いて pH 6 に調整し、320 L まで減圧濃縮した。水(238.8 kg)と *tert*-ブチルメチルエーテル(235.6 kg)を添加して分液した。水層を *tert*-ブチルメチルエーテル(235.6 kg)で抽出した。有機層を合わせて水(398.0 kg)で 2 回洗浄し、減圧濃縮した。残渣にトルエン(68.9 kg)を添加して減圧濃縮した。当該操作を再度繰り返した。残渣にトルエン(79.2 kg)を添加し、40 °C に加温して溶解した。混合物を冷却して、室温で 2 時間、0~5 °C で 1.5 時間攪拌した。析出物をろ取し、氷冷したトルエン(34.6 kg)で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の 7 (40.4 kg, 164.5 mol)を得た。収率 77%

Mp 59–60 °C; IR (ATR)  $\nu$  3282, 1519, 1333, 1028, 831  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI)  $m/z$  246 (MH)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  2.02–2.09 (m, 1H), 2.43 (t,  $J$ =5.0 Hz, 2H), 3.00 (d,  $J$ =7.3 Hz, 2H), 3.67–3.74 (m, 2H), 3.83–3.89 (m, 2H), 7.35 (dd,  $J$ =2.3, 8.7 Hz, 1H), 7.43 (d,  $J$ =2.3 Hz, 1H), 7.92 (d,  $J$ =8.7 Hz, 1H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  31.0, 42.9, 64.3, 126.6, 127.7, 132.9, 137.6, 139.3, 146.8. Anal. Calcd for C<sub>10</sub>H<sub>12</sub>NO<sub>4</sub>Cl: C, 48.89; H, 4.92; N, 5.70; Cl, 14.43. Found: C, 48.92; H, 4.86; N, 5.76; Cl, 14.36.

## 2-(5-chloro-2-nitrobenzyl)propane-1,3-diyl dimethanesulfonate (8) の合成

7 (40.3 kg, 164.0 mol)の酢酸エチル(181.8 kg)溶液にトリエチルアミン(49.8 kg, 492.1 mol)とメタンスルホン酸(56.4 kg, 492.4 mol)を 0~10 °C で順次添加して 1 時間攪拌した。室温に昇温して飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(215.5 kg)を添加した。室温で 1 時間攪拌した後、酢酸エチル(181.8 kg)で抽出した。有機層を飽和炭酸水素ナトリウム水溶液(215.5 kg)、10%食塩水(221.7 kg)、2 M 塩酸(215.5 kg)、10%食塩水(221.7 kg)、5%食塩水(211.8 kg×6)で洗浄し、減圧濃縮した。残渣に酢酸エチル(109.0 kg)を添加して 0 °C で 1 時間攪拌した。次いでジイソプロピルエーテル(87.6 kg)を滴下して 0 °C で 2 時間攪拌した。析出物をろ取し、酢酸エチルとジイソプロピルエーテルの 1 : 1 混液 (65.4 kg) で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の **8** (58.8 kg, 146.3 mol)を得た。収率 89%

Mp 73–74 °C; IR (ATR)  $\nu$  1522, 1339, 1173, 945, 823, 522  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI)  $m/z$  424 (MNa)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  2.56–2.64 (m, 1H), 3.04–3.08 (m, 8H), 4.23–4.36 (m, 4H), 7.42 (m, 1H), 8.03 (d,  $J=8.1$  Hz, 1H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  31.1, 37.5, 39.1, 67.4, 127.2, 128.7, 133.0, 135.1, 140.1, 147.4. Anal. Calcd for C<sub>12</sub>H<sub>16</sub>NO<sub>8</sub>S<sub>2</sub>Cl: C, 35.87; H, 4.01; N, 3.49; S, 15.96; Cl, 8.82. Found: C, 35.85; H, 3.79; N, 3.34; S, 16.01; Cl, 8.55.

#### 1-(6-chloro-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-3-yl)-*N,N*-dimethylmethanamine (*rac*-**2**) の合成

**8** (58.7 kg, 146.1 mol)と酢酸(307.7 kg)の THF (260.8 kg)溶液に亜鉛末(95.6 kg, 1462.0 mol)を 0~5 °C で添加して 0 °C で 1 時間した後、60 °C で 3 時間攪拌した。室温に冷却して不溶物をろ過し、THF (260.8 kg)で洗浄した。ろ洗液を合わせて減圧濃縮し、残渣に酢酸エチル(264.6 kg)を添加して溶解した。得られた溶液を水(293.4 kg×3)、5%炭酸水素ナトリウム水溶液(308.0 kg)、5%食塩水(308.0 kg)で順次洗浄し、減圧濃縮した。残渣に DMSO (64.6 kg)を添加し、減圧濃縮した。残渣に DMSO (64.6 kg)と 50%ジメチルアミン水溶液(252.3 kg, 2798.4 mol)を順次添加し、60 °C で 5 時間攪拌した。水(293.4 kg)を添加して室温で 1 時間、0 °C で 5 時間攪拌した。析出物をろ取し、水(293.4 kg)で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の *rac*-**2** (25.1 kg, 111.7 mol)を得た。収率 77%



Mp 94–95 °C; IR (KBr)  $\nu$  3246, 1604, 1495, 1304, 806  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI)  $m/z$  225 (MH)<sup>+</sup>; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  2.11–2.26 (m, 9H), 2.43 (dd,  $J$ =8.7, 16.3 Hz, 1H), 2.81 (dd,  $J$ =4.4, 16.1 Hz, 1H), 2.97 (t,  $J$ =9.7 Hz, 1H), 3.38 (dd,  $J$ =1.4, 11.2 Hz, 1H), 3.86 (br s, 1H), 6.39 (d,  $J$ =7.9 Hz, 1H), 6.91 (d,  $J$ =7.8 Hz, 1H), 6.92 (s, 1H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  30.2, 31.7, 45.4, 46.1, 63.1, 114.9, 121.3, 122.0, 126.6, 129.3, 143.2. Anal. Calcd for C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>Cl: C, 64.13; H, 7.62; N, 12.47; Cl 15.78. Found: C, 64.12; H, 7.60; N, 12.43; Cl, 15.67.

**1-[(3*S*)-6-chloro-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-3-yl]-*N,N*-dimethylmethanamine と *N*-[(4-methylphenyl)sulfonyl]-D-leucine とのジアステレオマー塩 ((*S*)-2•(*R*)-9) の合成**

*rac*-**2** (12.0 kg, 53.4 mol)と(*R*)-**9** (15.2 kg, 53.3 mol)を酢酸エチル(216.5 kg)に添加し、68 °C に加温して溶解した。室温に冷却して 18 時間攪拌した後、析出物をろ取り、酢酸エチル(21.6 kg)で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の(*S*)-**2**•(*R*)-**9** (8.40 kg, 16.5 mol, 89.4% *ee*)を得た。収率 31%

Mp 142–143 °C; IR (ATR)  $\nu$  2361, 1497, 1164, 569, 544  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI)  $m/z$  286 (MH)<sup>+</sup>; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> −0.6 (*c* 1.01, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  0.68 (d,  $J$ =6.5 Hz, 3H), 0.78 (d,  $J$ =6.6 Hz, 3H), 1.35 (t,  $J$ =7.1 Hz, 2H), 1.52–1.66 (m, 1H), 1.91–2.04 (m, 1H), 2.15–2.32 (m, 9H), 2.35 (s, 3H), 2.66–2.83 (m, 2H), 3.23 (d,  $J$ =9.4 Hz, 1H), 3.55 (t,  $J$ =7.2 Hz, 1H), 5.84 (br s, 1H), 6.41 (d,  $J$ =8.0 Hz, 1H), 6.83 (d,  $J$ =9.0 Hz, 1H), 6.85 (s, 1H), 7.33 (d,  $J$ =8.3 Hz, 2H), 7.63 (d,  $J$ =8.2 Hz, 2H), 7.88 (br s, 1H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  21.5, 21.8, 23.2, 24.4, 29.3, 31.5, 42.0, 44.6, 45.3, 55.0, 62.1, 114.8, 118.7, 121.3, 126.6, 127.1, 129.0, 129.8, 138.8, 142.8, 144.5, 174.1. Anal. Calcd for C<sub>25</sub>H<sub>36</sub>N<sub>3</sub>O<sub>4</sub>SCl: C, 58.87; H, 7.11; N, 8.24; S, 6.29; Cl, 6.95. Found: C, 58.72; H, 7.03; N, 8.13; S, 6.34, Cl, 6.72.

鏡像体過剰率はキラル HPLC で決定した。カラム : Chiralpak AD-RH (4.6×150 mm)、移動相 : 0.1%のトリエチルアミンを含有する 0.05 M リン酸二水素カリウム水溶液(pH 7.5) : アセトニトリル=50 : 50、流量 : 0.5 mL/分、温度 : 25 °C、検出 : UV 254 nm

### 1-[(3*S*)-6-chloro-1,2,3,4-tetrahydroquinolin-3-yl]-*N,N*-dimethylmethanamine ((*S*)-2) の合成

(*S*)-2・(*R*)-9 (8.40 kg, 16.5 mol, 89.4% *de*)を 0.5 M 水酸化ナトリウム水溶液(128.5 kg)に室温で 0.5 時間懸濁した後、トルエン(109.0 kg)で抽出した。水層をトルエン(36.3 kg)で抽出した。有機層を合わせて水(42.0 kg)で 2 回洗浄し、減圧濃縮した。残渣にトルエンとヘキサンの 1 : 2 混液(9.2 kg)を添加し、75 °C に加温して溶解した。溶液を室温に冷却して 20 時間攪拌した。析出物をろ取し、トルエンとヘキサンの 1 : 2 混液(2.3 kg)で洗浄し、減圧濃縮して白色結晶の crude-(*S*)-2 (3.14 kg, 14.0 mol, 98.6% *ee*)を得た。crude-(*S*)-2 (3.10 kg, 13.8 mol, 98.6% *ee*)をトルエンとヘキサンの 1 : 2 混液(6.7 kg)に添加し、80 °C に加熱して溶解した。室温に冷却して 3 時間攪拌した後、析出物をろ取し、トルエンとヘキサンの 1 : 2 混液(2.4 kg)で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の(*S*)-2 (2.81 kg, 12.5 mol, 99.9% *ee*)を得た。収率 77%

Mp 115–116 °C; IR (KBr)  $\nu$  3271, 1604, 1493, 1306, 814  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI)  $m/z$  225 (MH)<sup>+</sup>;  $[\alpha]^{20}_{\text{D}} +47.0$  ( $c$  0.96, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  2.11–2.27 (m, 9H), 2.42 (dd,  $J=8.8, 16.2$  Hz, 1H), 2.81 (dd,  $J=3.2, 15.4$  Hz, 1H), 2.98 (t,  $J=9.5$  Hz, 1H), 3.38 (dd,  $J=1.6, 11.2$  Hz, 1H), 3.86 (br s, 1H), 6.39 (d,  $J=8.7$  Hz, 1H), 6.91 (d,  $J=9.0$  Hz, 1H), 6.92 (s, 1H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  30.2, 31.7, 45.4, 46.1, 63.1, 114.9, 121.3, 122.0, 126.6, 129.3, 143.2. Anal. Calcd for C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>N<sub>2</sub>Cl: C, 64.13; H, 7.62; N, 12.47; Cl, 15.78. Found: C, 64.16; H, 7.82; N, 12.43; Cl, 15.57.

### (2*R*)-1-[(3*R*)-6-chloro-3-[(dimethylamino)methyl]-3,4-dihydroquinolin-1-(2*H*)-yl]-3-(1*H*-indol-3-yl)-1-oxopropan-2-amine (*syn*-3a) の合成 (第一世代製法)

*N*-Fmoc-D-Trp-OH·THF (4.68 kg, 9.38 mol)と DMF (0.28 kg)の THF (25.0 L)溶液に塩化オキザリル(1.43 kg, 11.3 mol)を 0~10 °C で滴下して 1 時間攪拌した。(S)-**2** (1.40 kg, 6.23 mol)とトリエチルアミン(1.37 kg, 13.5 mol)の THF (12.5 L)溶液を滴下して 0~10 °C で 3 時間攪拌した。5%炭酸水素ナトリウム水溶液(18.8 L)を添加した後、混合物を室温に昇温して酢酸エチル(18.8 L)で抽出した。有機層を水(18.8 L)で洗浄し、減圧濃縮した。残渣にメタノール(75.0 L)とピペリジン(3.77 kg, 44.3 mol)を順次添加した。室温で 16.5 時間攪拌した後、析出物をろ過してメタノール(7.5 L)で洗浄した。ろ洗液を合わせて減圧濃縮し、残渣にメタノール(25.0 L)を添加した。室温で 1 時間攪拌した後、析出物をろ過してメタノール(6.3 L)で洗浄した。ろ洗液を合わせて、後述するコンディショニングを施した DIAION® WK100 を充填したカラムにチャージした。メタノール(1125 L)、0.5%食塩水とメタノールの 20 : 80 混液(1125 L)、5 M 水酸化ナトリウム水溶液とメタノールの 20 : 80 混液(1125 L)で順次溶出した。*syn-3a* を含む有効分画液を集め、2 M 塩酸で pH 7 に調整して減圧濃縮した。残渣に酢酸エチル(188 L)と炭酸ナトリウム(18.8 kg)を添加して分液した。有機層を水(63.0 L)で 2 回洗浄し、減圧濃縮してアモルファス固体の *syn-3a* (1.88 kg, 4.57 mol)を得た。収率 73%

弱酸性陽イオン交換樹脂 DIAION® WK100 のコンディショニングは次のようにして行った。まずメタノールを用いてカラムに DIAION® WK100 (100 L)を充填した。次いで、水とメタノールの 1 : 4 混液 (200 L) 、水とメタノールの 1 : 1 混液 (200 L) 、水とメタノールの 4 : 1 混液 (200 L) 、水 (200 L) 、1 M 塩酸 (300 L) 、水 (300 L) 、メタノール (300 L) を順にカラムに通液した。

#### ***syn-3a*•0.25H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>•0.5H<sub>2</sub>O の合成 (第二世代製法)**

第一世代法と同じ方法 (CEC とその後の分液操作を除く) で、(S)-**2** (1.40 kg, 6.23 mol) から *syn-3a* (2.18 kg, 5.30 mol, 85% yield)を含むメタノール溶液を得た。当該メタノール溶液の一部 (*syn-3a* (37.1 g, 90.3 mmol)を含む) を抜き取って減圧濃縮した。残渣に酢酸エチル(200 mL)と水(100 mL)を添加し、2 M 塩酸(200 mL)を添加して pH 6 に調整した後、

分液した。有機層を水(50 mL)で抽出した。合わせた水層に炭酸ナトリウム(50 g)を加え、酢酸エチル(200 mL)で抽出した。有機層を 5%食塩水(100 mL)で洗浄し、減圧濃縮して crude-*syn-3a* (42.7 g)を得た。crude-*syn-3a* (1.00 g)にエタノール(2.0 mL)と水(2.0 mL)を添加して溶解した。溶液にリン酸(0.60 mL, 0.85 M)を添加して室温で 0.5 時間攪拌し、水(4.0 mL)を滴下して 0 °C で 1 時間攪拌した。析出物をろ取し、10%エタノール水溶液(1.0 mL)で洗浄し、減圧乾燥して crude-*syn-3a*•0.25H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>•0.5H<sub>2</sub>O (858 mg)を得た。crude-*syn-3a*•0.25H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>•0.5H<sub>2</sub>O (500 mg)を酢酸エチル(1.5 mL)とヘキサン(0.5 mL)の混合溶媒中、室温で 0.5 時間懸濁した後、析出物をろ取し、ヘキサン(1.0 mL)で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の *syn-3a*•0.25H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>•0.5H<sub>2</sub>O (430 mg, 0.978 mmol)を得た。収率 68%

Mp 159–166 °C; IR(KBr)  $\nu$  1658, 1485, 1090, 1043, 744 cm<sup>-1</sup>; MS (FAB)  $m/z$  411 (MH)<sup>+</sup>; [ $\alpha$ ]<sub>D</sub><sup>20</sup> +202.1 ( $c$  1.00, MeOH.); <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  1.69–1.94 (m, 3H), 2.05 (s, 7H), 2.20–3.50 (m, 5H), 4.08–4.22 (m, 1H), 6.76–6.90 (m, 1H), 6.91–7.18 (m, 5H), 7.29 (d  $J$ =8.1 Hz, 1H), 10.8 (s, 1H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  30.2, 32.5, 33.0, 45.5, 46.9, 52.5, 63.2, 110.1, 111.4, 118.2, 118.3, 120.9, 123.6, 125.7, 127.2, 127.6, 128.8, 136.2, 137.7, 174.9. Anal. Calcd for C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>N<sub>4</sub>OCl•0.25H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>•0.5H<sub>2</sub>O: C, 62.16; H, 6.52; N, 12.61; Cl, 7.98; P, 1.74. Found: C, 62.16; H, 6.40; N, 12.47; Cl, 7.93; P, 1.77.

Crystal data for *syn-3a*•0.25H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>•0.5H<sub>2</sub>O: C<sub>23</sub>H<sub>27</sub>ClN<sub>4</sub>O, 0.25H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 0.5H<sub>2</sub>O, tetragonal, *I*<sub>4</sub> (#79),  $a$ =22.700 (3) Å,  $c$ =8.762(3) Å,  $V$ =4514.8(17) Å<sup>3</sup>,  $Z$ =8,  $D_{\text{calc}}$ =1.308 g/cm<sup>3</sup>,  $R$ =0.056,  $R_w$ =0.180. Flack パラメータ<sup>15</sup>は 0.01(5)であり、絶対配置を支持する。詳細な X 線構造解析データは Cambridge Crystallographic Data Centre から入手可能 (deposition number CCDC 761513)。

*N*[(1*R*)-2-[(3*R*)-6-chloro-3-[(dimethylamino)methyl]-3,4-dihydroquinolin-1(2*H*)-yl]-1-(1*H*-indol-3-ylmethyl)-2-oxoethyl]-1-[(1-methyl-1*H*-indol-2-yl)carbonyl]piperidine-4-carboxamide (1) の合成

*syn*-**3a**•0.25H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>•0.5H<sub>2</sub>O (1.40 kg, 3.15 mol)、**4** (1.08 kg, 3.77 mol)、EDC•HCl (0.73 kg)、HOBt (0.58 kg)を DMF (14.0 L)に添加して、室温で 2 時間攪拌した。反応混合物を酢酸エチル(18.0 L)に 10 °C で添加した。DMF (2.0 L)と酢酸エチル(10.0 L)を添加し、20 °C 以下で、5%炭酸カリウム水溶液(14.0 L×2)、10%食塩水(14.0 L)で順次洗浄した。有機層に活性炭(0.14 kg)を添加した。室温で 10 分攪拌した後、不溶物をろ過し、酢酸エチル(4.2 L)で洗浄した。ろ洗液を合わせて減圧濃縮した。残渣にエタノール(4.2 L)を添加して減圧濃縮した。残渣にエタノール(12.0 L)を添加して溶解し、得られた溶液を水(70.0 L)に滴下した(移液用のリンスにエタノール(2.0 L)を用いた)。室温で 1 時間攪拌した後、析出物をろ取し、水(7.0 L)で洗浄し、減圧乾燥して白色アモルファス粉末の **1** (1.89 kg, 2.75 mol, 0.5 水和物換算)を得た。収率 87%

Mp 135–145 °C; IR (ATR)  $\nu$  1630, 1442, 1270, 1214, 739 cm<sup>-1</sup>; MS (ESI)  $m/z$  679 (MH)<sup>+</sup>;  $[\alpha]^{20}_{\text{D}}$  -151.4 ( $c$  1.00, MeOH); <sup>1</sup>H NMR (500 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  1.42–1.59 (m, 2H), 1.61–1.91 (m, 3H), 1.94–2.11 (m, 8H), 2.38–2.68 (m, 5H), 2.75–3.20 (m, 4H), 3.40–3.55 (m, 1H), 3.74 (s, 3H), 3.80–4.70 (m, 2H), 5.16 (br s, 1H), 6.62 (s, 1H), 6.79 (br s, 1H), 6.90–7.35 (m, 7H), 7.43–7.66 (m, 3H), 8.36 (br s, 1H), 10.77 (br s, 1H); <sup>13</sup>C NMR (125 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  28.1, 30.2, 30.6, 41.2, 45.3, 47.1, 50.8, 63.5, 101.8, 109.1, 110.2, 111.2, 117.6, 118.0, 119.8, 120.7, 121.0, 122.6, 123.7, 125.7, 126.0, 126.7, 127.3, 132.4, 135.9, 137.1, 137.4, 161.8, 172.0, 173.8. Anal. Calcd for C<sub>39</sub>H<sub>43</sub>N<sub>6</sub>O<sub>3</sub>Cl•0.5H<sub>2</sub>O: C, 68.06; H, 6.44; N, 12.21. Found: C, 68.36; H, 6.28; N, 12.21.

鏡像体過剰率はキラル HPLC で決定した。カラム : Chiralcel OD-RH (4.6×150 mm)、移動相 : 0.05 M 酢酸アンモニウム水溶液 : アセトニトリル = 40 : 60、流量 : 1.0 mL/分、温度 : 40 °C、検出 : UV 250 nm

## 第10節 参考文献

- (1) Lian, Y. *Adv. Drug Deliv. Rev.* **2001**, *48*, 27-42.
- (2) Welch, C. J.; Fleits, F.; Antia, F.; Yehl, P.; Waters, R.; Ikemoto, N.; Armstrong, J. D.; Mathre, D. J. *Org. Process Res. Dev.* **2004**, *8*, 186-191.
- (3) Welch, C. J.; Henderson, D. W.; Tschaen, D. M.; Miller, R. A. *Org. Process Res. Dev.* **2009**, *13*, 621-624.
- (4) *Preparative Chromatography of Fine Chemicals and Pharmaceutical Agents*, Schmidt-Traub, H. Ed.; Wiley-VCH: Weinheim, 2005.
- (5) Hatanaka, C.; Abe, Y.; Yamano, M. *PCT Int. Appl.* WO1997/048726, **2001**.
- (6) Abe, H. *MEDCHEM NEWS* **2007**, *17(3)*, 18-22.
- (7) Kato, K.; Terauchi, J.; Suzuki, N.; Takekawa, S. *PCT Int. Appl.* WO2001025228(A1), **2001**.
- (8) Suzuki, M.; Ohuchi, Y.; Asanuma, H.; Kaneko, T.; Yokomori, S.; Ito, C.; Isobe, Y.; Muramatsu, M. *Chem. Pharm. Bull.* **2000**, *48*, 2003-2008.
- (9) Lewandowska, E.; Kinastowski, S.; Wnuk, S. F. *Can. J. Chem.* **2002**, *80*, 192-199.
- (10) Curran, D.; Gabarda, A. E. *Tetrahedron* **1999**, *55*, 3327-3336.
- (11) アルコール溶媒中で水素化ホウ素ナトリウムを用いる還元反応の発熱制御に関する報告例 : (a) Flanagan, R. C.; Xie, S.; Millar, A. *Org. Process Res. Dev.* **2008**, *12*, 1307-1312; (b) Belecki, K.; Berliner, M.; Bibart, R. T.; Meltz, C.; Ng, K.; Phillips, J.; Ripin, D. H. B.; Vetelino, M. *Org. Process Res. Dev.* **2007**, *11*, 754-761.
- (12) 分割剤の片方のエナンチオマーを用いて基質の両エナンチオマーとそれぞれ別のジアステレオマー塩を形成して光学分割した報告例 : (a) Hirose, T.; Begum, M.; Islam, M. S.; Taniguchi, K.; Yasutake, M. *Tetrahedron: Asymmetry* **2008**, *19*, 1641-1646; (b) Taniguchi, K.; Aruga, M.; Yasutake, M.; Hirose, T. *Org. Biomol. Chem.* **2008**, *6*, 458-463; (c) Taniguchi, K.; Sakurai, R.; Sakai, K.; Yasutake, M.; Hirose, T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **2006**, *79*, 1084-1090; (d) Sakai, K.; Sakurai, R.; Nohira, H.; Tanaka, R.;

Hirayama, N. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 3495-3500; (e) Sakai, K.; Sakurai, R.; Hirayama, N. *Tetrahedron: Asymmetry* **2004**, *15*, 1073-1076.

(13) *N, N'*-ジシクロヘキシルカルボジイミド (DCC) を用いたテトラヒドロキノリンの *N*-アシル化反応の報告例 : Somayaji, V.; Brown, R. S. *J. Org. Chem.* **1986**, *51*, 2676-2686.

(14) Fmoc を保護基に用いて酸クロリドを経由したペプチド合成の報告例 : (a) Carpino, L.A.; Beyermann, M.; Wenschuh, H.; Bienert, M. *Acc. Chem. Res.* **1996**, *29*, 268-274; (b) Carpino, L. A. *Acc. Chem. Res.* **1987**, *20*, 401-407.

(15) Flack parameter: Flack, H. D. *Acta Crystallogr. A* **1983**, *39*, 876.

## 第4章 アミノ酸を含有しないペプチドミメティクス医薬品のプロセス研究

### 第1節 序論

第1章第1節で述べたように、ペプチド構造を有するペプチドミメティクス医薬品は、その構成成分であるアミノ酸を修飾することにより、ペプチドに比べてより好ましい薬学的特性を獲得できるようデザインされるが、さらに継続して化学修飾が施される過程において、アミノ酸のモチーフを全く含有しないペプチドミメティクスに誘導されることがある。アミノ酸を含有しないペプチドミメティクス医薬品は、当該化合物がアミノ酸以外の成分で構成されていることから、さらに広範に及ぶ有機合成化学的検討課題をそのプロセス研究にもたらす。例えば一般の有機合成化学と同じく、汎用性の高い有用な合成試薬や合成シントンの開発といったことが、そのプロセス研究過程においても取り組まれる。抗肥満薬として期待されるメラニン凝集ホルモン受容体 1 (MCHR1) 拮抗薬の探索研究では、アミノ酸を含有しないペプチドミメティクス **1** (Figure 4-1) が、高活性かつ高選択的な経口 MCHR1 拮抗薬として報告されて以降、アミノ酸を含有しないペプチドミメティクスに時流が移り変わった<sup>1,2</sup>。

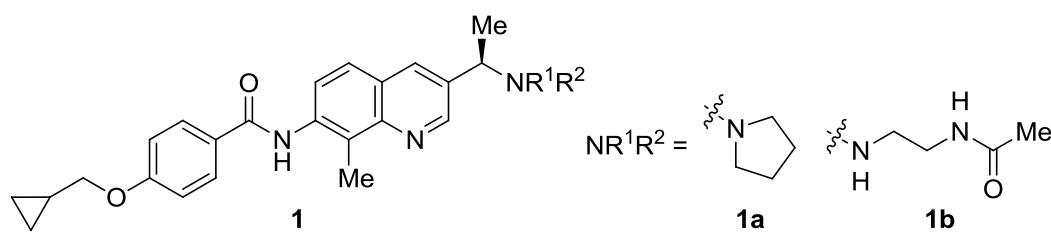
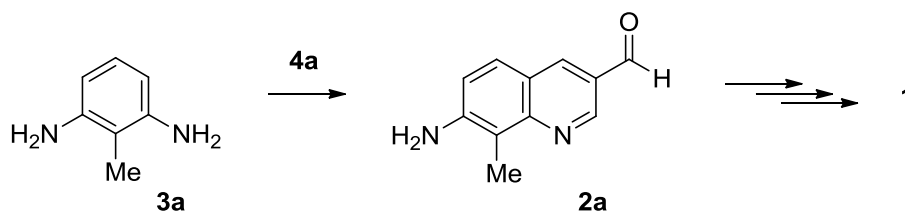


Figure 4-1 MCHR1 拮抗薬 **1**

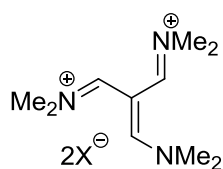
MCHR1 拮抗薬 **1** の構造は、その主骨格に 7-アシルアミノ-3-アミノメチル-8-メチルキノリンを有する点が特徴的であり、7-アミノ-3-ホルミル-8-メチルキノリン **2a** が、一連の MCHR1 拮抗薬群を合成する多用途な鍵中間体として重要な役割を担う (Scheme 4-1)<sup>2c</sup>。創薬化学の合成法では、2 位にイミノオメチル基を有するピナミジニ



ウム塩（1,5-ジアザペンタジエニウム塩）**4a**（Figure 4-2）と 2,6-ジアミノトルエン **3a** を用いたキノリン環化反応により、鍵中間体 **2a** が合成された。



Scheme 4-1 MCHR1 拮抗薬 **1** の創薬化学合成法



**4a** (X=BF<sub>4</sub>), **4b** (X=Cl), **4c** (X=ClO<sub>4</sub>), **4d** (X=PF<sub>6</sub>)

Figure 4-2 既知の 2-イミノオメチルピナミジニウム塩 **4**

ピナミジニウム塩 **3** は、キノリン **4**、ピリミジン **5-7**、ピロール **8**、イソオキサゾール **9**、ピリジン **10-13**、ベンゼン **14,15**、縮環ピリミジンや縮環ピリジン **16-18** 等、種々の芳香環の環化反応に適用可能なことが知られており、このような合成化学的手法はアカデミアのみならず産業界からも注目を集めている。工業的製造法への適用事例には、第 1 章第 5 節で述べた、エトリコキシブが挙げられる <sup>12</sup>。種々のピナミジニウム塩の中でも、トリホルミルメタン等価体として有用な、2 位にイミノオメチル基を有するピナミジニウム塩 **4** が特に注目されている <sup>9,19,20</sup>。しかしながら **4** は、高い吸湿性を示すことが合成試薬として問題である。特に塩化物塩 **4b** は分解に繋がる潮解性を有するため <sup>21</sup>、大量製造時の取り扱いが困難である。このような吸湿性や潮解性を克服するため過塩素酸塩 **4c** が開発され、塩化

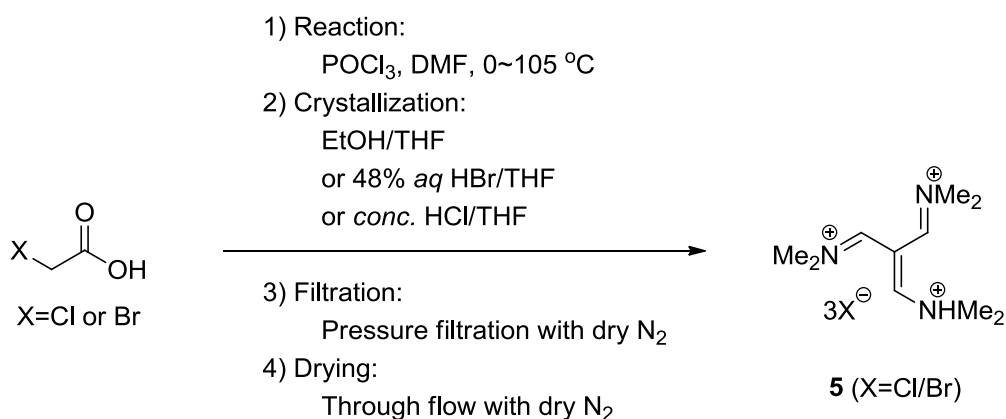
物塩 **4b** の代替品として用いられてきた<sup>5,8</sup>。しかしその後、過塩素酸塩 **4c** が高い発熱量ならびに高い衝撃感度を有することが報告されると<sup>22,23</sup>、より安全なテトラフルオロボロン酸塩 **4a** がその代替に使用されるようになった<sup>4,9</sup>。しかしながら **4a** はガラス腐食性の問題を有する。近年、非吸湿性のヘキサフルオロリン酸塩 **4d** が開発され、種々の合成に適用されているが<sup>24</sup>、アニオン源に用いるヘキサフルオロリン酸が高価なことが問題であった。

武田薬品工業株式会社で実施された抗肥満薬の開発プログラムの一環として、一連の MCHR1 拮抗薬群 **1** の合成に有用な鍵中間体、7-アミノ-3-ホルミル-8-メチルキノリン **2** の大量製造法を開発する必要があった。キノリンの合成法は種々知られているが、筆者の知る限りにおいて、**2** の既知の合成法は Scheme 1 に示す方法のみであった<sup>2b,2c,4</sup>。そこで既存の合成法を改良する目的で、1) 空气中で安定に取り扱える、2) ガラス腐食性がない、3) 汎用原料を用いて安価に合成できるといった、大量製造に適した特性を有する新規な 2-イミノオメチルピナミジニウム塩 **5** の開発研究を行った。このような特性を有するピナミジニウム塩は、一般的に有用な合成試薬となり得る可能性があり、開発する価値が高い。また、当該新規ピナミジニウム塩 **5** をキノリン環化反応に適用して、MCHR1 拮抗薬 **1** の鍵中間体 **2** を合成する方法について研究を行い、その大量製造法を確立した。

## 第2節 新規ピナミジニウム塩の発見

2-イミノオメチルピナミジニウム塩 **4** は、ブromo酢酸と DMF およびオキシ塩化リンを用いた Vilsmeier-Haack タイプの反応により合成される<sup>19</sup>。またホスホノ酢酸<sup>5</sup>、トリフルオロプロパン酸<sup>24</sup>やマロン酸<sup>15</sup>と Vilsmeier 試薬との反応でも **4** を合成できる。ピナミジニウム塩 **4** の単離には、テトラフルオロボロン酸、過塩素酸、ヘキサフルオロリン酸等を含む水溶液からの晶析が適用可能である<sup>5,15,19,24</sup>。例えば、ブromo酢酸を用いた場合(ブromo酢酸 : DMF : オキシ塩化リン = 1 : 15 : 3)、残留 DMF を留去した残渣に、氷、テトラフルオロボロン酸ナトリウム水溶液を順次加えると、**4a** の結晶が得られる<sup>19</sup>。

筆者は入手容易なブromo酢酸を基質に選択し、オキシ塩化リンならびに DMF を用いて系中で Vilsmeier 試薬を発生させ、2-イミノオメチルビナミジニウム塩の合成を試みた (Scheme 4-2)。DMF は溶媒としての用途を兼ねるため過剰量使用した (ブromo酢酸 : DMF : オキシ塩化リン = 1 : 6 : 4)。反応終了後、エタノールを添加して反応液をクエンチし、結晶化の貧溶媒に THF を選択して非水系からの晶析を試みたところ、期待通り結晶が析出した。高沸点成分である DMF の留去は不要であった。続く固液分離操作には、結晶の吸湿を避けるため加圧ろ過法を採用し、乾燥操作にも乾燥窒素 (露点 -80 °C) を用いた通気乾燥法を採用した。



**Scheme 4-2** 2-イミノオメチルビナミジニウムトリハロゲン化物塩 **5** の合成と単離

単離した結晶の <sup>1</sup>H NMR (DMSO-*d*<sub>6</sub>) を測定すると、予期せぬことに、従来 3.5 ppm 付近に見られる水のピークは観測されず、その代わりに 6.5 ppm 付近にシングレットピークが観測された。これは、副生した酸 (塩化水素または臭化水素) によりビナミジニウム塩がプロトン化されていることを示す。すなわち当該プロセスでは、ジハロゲン化物塩 **4b** ではなく、トリハロゲン化物塩 **5** が得られた (Scheme 4-2)。Figure 4-3 に、トリハロゲン化物塩 **5** (X=Cl) の <sup>1</sup>H NMR スペクトルの例を示す。筆者の知る限りにおいて、2-イミノオメチルビナミジニウム塩については、**4a-d** のような 2 分子のカウンターアニ

オンを有するタイプのみ報告例が存在し、**5** のような 3 分子のカウンターアニオンを有するタイプの報告例はない。

トリハロゲン化物塩 **5** は、幸いにことに、良好な物理化学的特性を有し、空气中で潮解しなかった。結果的に **5** は、合成試薬として容易に取り扱うことができ、気密容器を用いて室温で保存するだけで、長期間に渡りその品質を保持した。実際、合成してから 3 年を過ぎても、その  $^1\text{H}$  NMR スペクトルに顕著な変化は見られず、後述する 7-アミノ-3-ホルミル-8-メチルキノリンの合成に使用しても、新たに合成したロットと遜色ない反応性を示した。具体的には、純度 99.3 % (HPLC 分析) の **2b** が収率 95% で得られた。

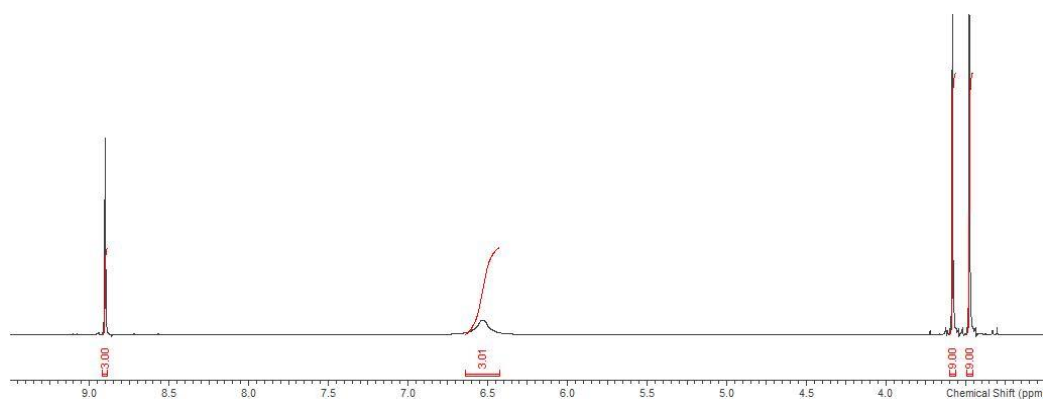


Figure 4-3 トリハロゲン化物塩 **5** (X=Cl) の  $^1\text{H}$  NMR スペクトル

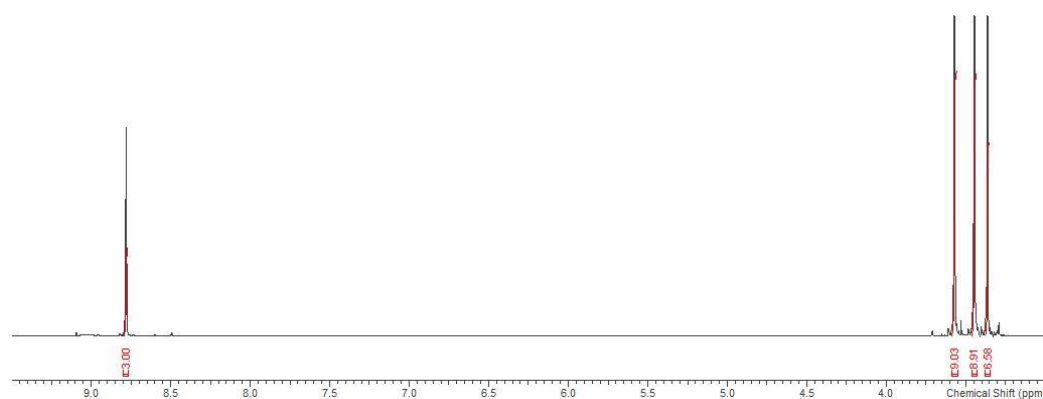


Figure 4-4 ジハロゲン化物塩 **4b** (X=Cl) の  $^1\text{H}$  NMR スペクトル

トリハロゲン化物塩 **5** の水分に対する寛容性を確認したところ、興味深い現象が確認された。上記した方法で一旦単離、乾燥した **5** の結晶を再び通気乾燥装置に入れ、乾燥窒素の代わりに相対湿度約 50%の空気を通気した。約 9 時間後のサンプルについて  $^1\text{H}$  NMR を測定すると、6.5 ppm 付近のシングレットピークがなくなり、3.5 ppm 付近に水のピークが観測された。相対湿度約 50%の空気を通気することで、当該結晶は、最終的には潮解して分解した。このことは、空気中の水分が徐々に酸性成分（塩化水素または臭化水素）を置換して、**5** を **4b** の湿体に変換することを示唆する（ジハロゲン化物塩 **4b** はその潮解性が原因で元素分析できなかった）。Figure 4-4 に、トリハロゲン化物塩 **5** ( $\text{X}=\text{Cl}$ ) から変換されたジハロゲン化物塩 **4b** ( $\text{X}=\text{Cl}$ ) の  $^1\text{H}$  NMR スペクトルの例を示す。この実験結果により、**5** は空気中で容易に取り扱うことができるが、時間を要するものの不可逆的に進行する **4b** への変換と続く分解を防ぐために、気密条件での保存が必要なことが確認された。

### 第3節 新規ビナミジニウム塩の大量製造法の開発

取り扱いが容易で長期間保存可能なビナミジニウム塩を見出したことから、次にその大量製造法を開発すべく、以下に示す三つの主要な課題の解決を図った。まず一つめの課題として、ビナミジニウム塩生成時の顕著な発熱反応の制御について検討した<sup>21</sup>。当該反応は、75 °C の反応温度では途中で反応が停止して 2-クロロビナミジニウム塩を与えることが知られている<sup>25</sup>。そのため 2-イミノオメチルビナミジニウム塩を生成する反応を完結するには、75 °C 以上に昇温するが必要あった<sup>19</sup>。本反応のような多段階反応の発熱を制御するには、低温側の反応が完結するまで反応温度を低温側に保った後、高温側の反応を完結すべく段階的に昇温する方法が妥当と考えられる。そこで以下に示す段階的昇温法を設定した。1) ブロモ酢酸 (1 当量) と DMF (6 当量) の混合物にオキシ塩化リン (4 当量) を 0 °C で添加する。2) 反応混合物を 80 °C に昇温する。3) 反応温度を 80 °C に保つ

て攪拌する。4) 95 °C に昇温して攪拌する。5) 105 °C に昇温して攪拌する。当該段階的昇温法の可否については、以下に記す二つめおよび三つめの検討課題と合わせて評価した。

二つめの課題は、晶析プロセスのスケールアップである。上述したように **5** の結晶は非水系であるエタノールと THF の混合溶媒から得られる。実際、ラボスケールでは、上記の段階的昇温法を適用して反応を行った後、冷却してからエタノールと THF を順次添加することにより、**5** が 62% の収率で得られた (Table 4-1, run 1)。しかしながら、同様の方法をパイロットプラントスケールで行うと、収率が 33~41% と大幅に低下した (runs 2, 3)。バッチサイズが大きくなるに連れ、発熱過程であるエタノールの滴下時間が大幅に延長されたが (最長で 3 時間程度)、**5** はエタノールと反応してアセタールを生じる可能性があるため<sup>20</sup>、エタノール滴下時間の延長が収率に影響を及ぼしたと推察された。そこで完全な非水系でなくとも **5** の結晶が得られるとの仮定の下 (必要に応じて種晶の接種も可能)、エタノールの代替に 48% 臭化水素酸を用いたところ、**5** の結晶が得られた。48% 臭化水素酸と THF の晶析溶媒系は、エタノールと THF の晶析溶媒系とは対照的に、スケールアップにより反応液のクエンチ (48% 臭化水素酸の滴下) に 4 時間程度を要した場合においても、ラボスケールとほぼ同様な収率 (69%) を与えた (run 4)。

三つめの検討課題は、上術した晶析溶媒系の変更により結果的にもたらされた。48% 臭化水素酸と THF の系から晶析した **5** を単離すると比較的多くの水分を含んでいたため、この湿結晶を効率的に乾燥する方法の開発が課題となった。そこで通気乾燥法のスケールアップを検討したところ、乾燥室素を約 60 °C に加熱して通気することで、工業的規模においても乾燥可能なことを見出した。当該乾燥法では水分量を約 5% 程度にコントロール可能であり、単離結晶の安定性は従来のもものと比較して遜色なかった。

上述した三つの主要な課題を解決し、最適化した条件を適用して実際にパイロットプラントで **5** の製造を複数バッチ行い、当該製造法がスケールアップ可能なことを検証した (runs 5, 6)。その結果、操作上の問題を生じることなく、また再現性よく **5** が得られた

ことから、当該製造法が約 80 キログラムスケールの製造に適用可能な製法であることが実証された。

ビナミジニウム塩 **5** の元素分析を行ったところ、48%臭化水素酸の使用の有無に係わらず、塩化物イオンならびに臭化物イオンを含有することが判明した。そこで **5** の特性解析のため、ブロモ酢酸の代わりにクロロ酢酸、臭化水素酸の代わりに塩酸を用いて、臭化物イオンを含まない **5** を合成した。単離した結晶 **5** は一般的な分析により、2-イミノビナミジニウム塩トリクロリド **5** ( $X=Cl$ ) と同定された。この臭化物イオンを含まない **5** ( $X=Cl$ ) は、収率が 45%と低かったことから、以降の研究では引き続き臭化物イオン（および塩化物イオン）を含む **5** を用いることとした。臭化物イオンを含む **5** の組成は以下のようにして決定した。 $^1H$  NMR 解析により **5** は極少量の有機不純物しか含まないことが判明したため、ビナミジニウムカチオンの量は、実測可能な臭化物アニオン、塩化物アニオンおよび水の量を控除することにより、演繹的に算出した。臭化物アニオンと塩化物アニオンの量は酸素フラスコ燃焼法で前処理したサンプルをイオンクロマトグラフィーで分析して決定した。水分量は Karl Fischer 法で測定した。このようにして解析したビナミジニウムカチオン、臭化物イオン、塩化物イオンの重量比およびモル比を Table 4-1 に示す。48%臭化水素酸と THF の系から析出した結晶は、エタノールと THF の系から析出した結晶とは対照的に、ビナミジニウムカチオン、臭化物イオン、塩化物イオンのモル比に関して、ロット間のバラツキが少ない傾向が見られた（ビナミジニウムカチオン：臭化物イオン：塩化物イオン=1.0 : 0.5 : 2.0~2.3）。以降の研究では、物質量の計算を簡便に行えるよう、**5** を分子式  $C_{10}H_{22}N_3Br_{0.5}Cl_{2.5}$ 、分子量 312.89 の試薬として取り扱うこととした。

**Table 4-1 2-イミノオメチルビナミジニウムトリハロゲン化物塩 5 の合成と分析**

run	bromo- acetic acid (kg)	solvent	5		content of each contribution				molar ratio cation:Br:Cl
			(w/w%)						
			kg	yield (%) <sup>a</sup>	[H <sub>2</sub> O] <sup>b</sup>	[Br] <sup>c</sup>	[Cl] <sup>c</sup>	[Cation] <sup>d</sup>	
1	0.0227	EtOH/THF	0.0327	62	1.6	26.7	15.0	56.7	1.0:1.1:1.4
2	14.6	EtOH/THF	10.7	33	0.5	19.1	20.2	60.2	1.0:0.7:1.7
3	25.4	EtOH/THF	22.6	41	0.0	16.6	23.1	60.3	1.0:1.6:2.0
4	22.9	48% HBr/ THF	37.1	69	5.0	12.5	24.5	58.0	1.0:0.5:2.2
5	49.5	48% HBr/ THF	84.1	74	5.3	11.2	25.8	57.6	1.0:0.5:2.3
6	49.5	48% HBr/ THF	77.9	71	4.3	13.1	22.6	60.1	1.0:0.5:2.0

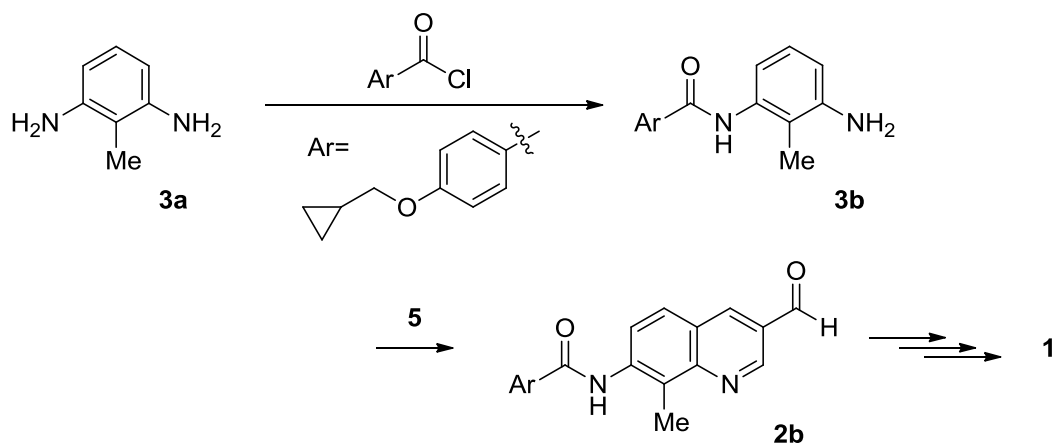
<sup>a</sup>補正収率（ビナミジニウムカチオン含量基準） <sup>b</sup>Karl Fischer 法で測定した水分量 <sup>c</sup>酸素フラ  
スコ燃焼法で前処理したサンプルをイオンクロマトグラフィーで測定した臭化物イオンおよび  
塩化物イオンの含量 <sup>d</sup>控除法（[Cation]=100-[H<sub>2</sub>O]-[Br]-[Cl]）により算出したビナミジニウム  
カチオンの含量

#### 第4節 MCHR1 拮抗薬の合成戦略

MCHR1 拮抗薬 **1** の創薬化学の合成法は、2,6-ジアミノトルエン **3a** とビナミジニウム  
塩 **4a** とのキノリン環化反応から開始された (Scheme 4-1)。当該反応はキノリン **2a** を  
77%の収率で与えた。続く工程で 7 位アミノ基をアミドに変換し、3 位ホルミル基に対す  
る還元的アミノ化反応で得られるベンジルアミンを光学分割して、**1** の最初の合成が達成  
された<sup>2b,2c</sup>。ジアミン **3a** を用いたキノリン閉環反応に関して予備的な検討を行ったところ、  
上記のような報告例があるにも係わらず、反応の再現性が得られなかった。そこで片方の  
アミノ基をアシル保護した **3b** を合成し、**5** とのキノリン閉環反応を試みた (Scheme 4-3)。  
*N*-アシル基には、**1a** や **1b** といった MCHR1 拮抗薬として有望な化合物群が有する同一  
のアミドペンダント、4-シクロプロピルメトキシベンゾイル基を選択した。*N*-アシル体  
**3b** の合成に関しては、対称ジアミン **3a** を選択的にモノアシル化する方法を試みた。トル



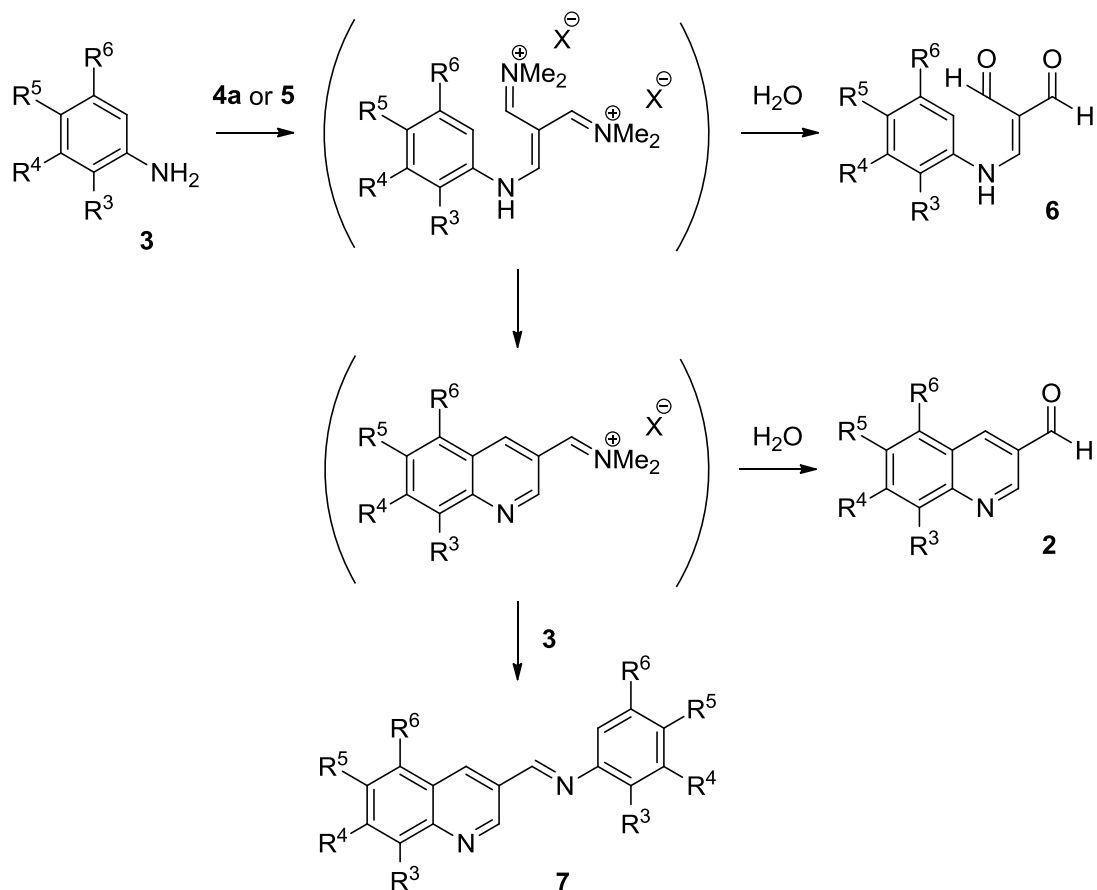
エンと THF (5 : 3) の混合溶媒中、0 °C で **3a** と酸クロリドとを反応させると、**3b** が 92% の収率で得られた。このモノアシル化の高い選択性は、主に生成物 **3b** の低い溶解度に起因すると推察される。具体的には、**3b** が反応混合物中で析出するため、2 分子めの酸クロリドと反応して *N,N*-ジアシル体に変換される割合が少なかったと推察された。



Scheme 4-3 MCHR1 拮抗薬 1 の合成戦略

ビナミジニウム塩 **4a** を用いた、3 位、3 位と 4 位、または 3 位と 5 位に置換基を有するアニリンのキノリン閉環反応については、Tom らによって詳細な研究が行われ、アニリン環の電子密度が反応性に大きな影響を及ぼすことが示されている (Scheme 4-4) <sup>4</sup>。3 位にメトキシ基やジメチルアミノ基を有するアニリンが、対応するキノリンを高い収率で与えるのに対し (93%:  $R^4=OMe$ ,  $R^3=R^5=R^6=H$ ; 96%:  $R^4=NMe_2$ ,  $R^3=R^5=R^6=H$ )、3 位にメチル基を有するアニリン ( $R^4=Me$ ,  $R^3=R^5=R^6=H$ ) では顕著に収率が低下した。エタノールまたは酢酸を溶媒に用いて 78 °C で反応すると、環化反応が完結せず (**2** : **6** = 1 : 2.5)、収率が一定しなかった (混合物として <80%~90%)。ブタノールまたは酢酸を溶媒に用いて 118 °C で反応すると、環化反応は改善されたが (**2** : **6** = 1 : 0)、収率は低下した (ブタノール中 63%、酢酸中 71%)。3 位にクロロ基を有するアニリン ( $R^4=Cl$ ,  $R^3=R^5=R^6=H$ ) では、環化反応の進行が顕著に低下した (酢酸中 118 °C、**2** : **6** = 5 : 12、混合物として収

率 72%、環化反応の位置選択性も問題となった）。以上のデータから、3 位に電子吸引性の *N*-アシル基を有する **3b** ( $R^3=\text{Me}$ ,  $R^4=\text{NHCOAr}$ ,  $R^5=R^6=\text{H}$ ) ではキノリン閉環反応が進行しにくいことが予想され、当該反応開発の成否がプロセス研究全体の成功の鍵となることが予見された。



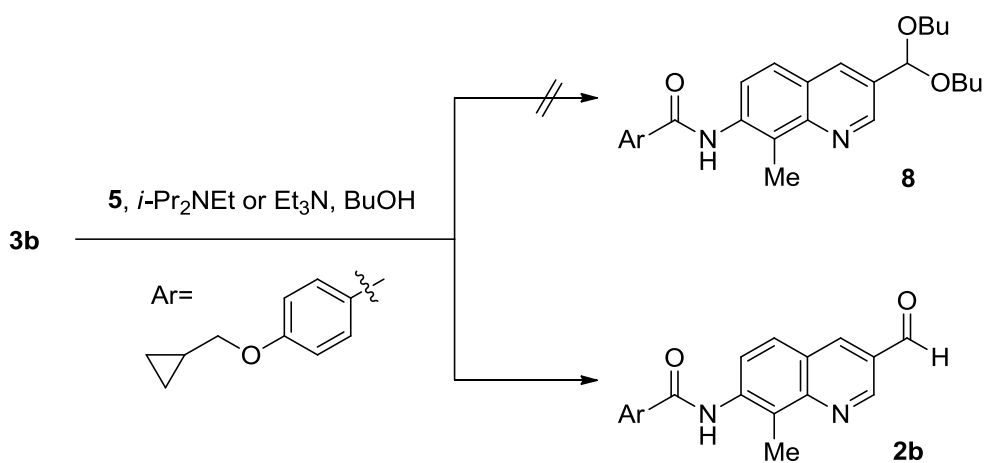
**Scheme 4-4** 2-イミノオメチルピナミジニウム塩を用いたキノリン環化反応

#### 第5節 鍵中間体 7-アミノ-3-ホルミルキノリンの合成法開発

スムーズに進行する環化反応条件を開発するため、2 種類の溶媒を用いて以下の検討を行った。ピナミジニウム塩 **5** が、汎用的な有機溶媒にあまり溶解しないのに対し、酢酸に対しては高い溶解度 (>20%) を示したことから、まずは酢酸を溶媒に選択して検討を行

った。基質 **3b** とビナミジニウム塩 **5** とを酢酸中で加熱すると、**3b** の *N*-アセチル体を含む多種類の副生物や、タール状物質が生じる等、全くスムーズに反応が進行しなかった。特にタール状物質は除去が困難であり精製工程で大きな問題となったため、タール状物質が生じないよう反応条件を最適化する必要があった。主要な副生物の種類は反応温度に依存した。反応混合物を LC-MS 分析すると、70 °C で 19 時間反応した場合、環化反応が進行しなかった **6** が主要な副生物となり、110 °C で 6 時間反応した場合はイミン **7** が主要な副生物となった (Scheme 4-4)。イミン **7** は反応の進行に連れて徐々に増加した。

次に溶媒をアルコールに変更して、pH や添加剤等について検討した。先の検討結果や Tom らの報告<sup>4</sup>から、高温条件が環化反応の進行に必要と思われたため、高沸点のブタノールを選択した。またイミンの副生を抑制する目的で、溶媒として用いたアルコールにより、アルデヒド部位を系中でアセタール保護することを検討した (Scheme 4-5)。ビナミジニウム塩 **5** に含まれる酸性成分を中和する目的で 3 級アミン (ジイソプロピルエチルアミンまたはトリエチルアミン) を添加したが、予想に反して、ジブチルアセタール **8** ではなくアルデヒド **2b** が直接得られた。一方 **4b** を用いると、**8** が収率 78% で得られた。ジブチルアセタール **8** は酸性加水分解により定量的に **2b** へと変換された。両反応条件の差異を考慮すると、**5** を用いた際に **8** が得られなかった原因は、系中に共存する塩酸または臭化水素酸の 3 級アミン塩の影響と推察される。




Scheme 4-5 アルコール溶媒中でのキノリン環化反応 (in situ アセタール保護の検討)

上記の検討の結果、**3b** と **5** の反応をブタノール中、3 級アミンの存在下で行うと、酢酸中での反応と比較してよりスムーズに反応が進行することが判明した。110 °C で反応すると 1 時間以内に反応が完結し、80 °C で反応するとより綺麗に反応が進行してタール状の副生物が生じることもなく、2 時間で反応が完結した。反応のプロファイルが改善したことから、高い品質（98.4%、HPLC 分析）を有する **2b** が収率 90% で得られた。しかしながら残念なことに、本法は水分に対する寛容性が低いという重大な欠陥を有していた。例えば、2.5% の含水率を有する **5** を用いた場合、反応速度が顕著に低下し、また低い転換率（最大で 54.6%、HPLC 分析）で反応が停滞し、結果的に多種類の副生物を与えた。第 3 節（Table 4-1）で述べた最適条件で得られる **5** の水分量が 5% 程度であることを考慮すると、上記の結果は重大な問題であった。

以上の検討結果を踏まえ、キノリン閉環反応の開発方針を変更した。すなわち、アルコールによるアセタール保護に代えて、2 級アミンを用いたアミナール保護について検討を行った（Table 4-2）。まず 2 級アミン（ジプロピルアミン、ジイソプロピルアミン、ピペリジン、モルホリン）をスクリーニングした（runs 1-4）。反応は、ブタノール中、トリエチルアミンの存在下、80 °C で行った。その結果、全てのケースにおいて、水分を約 5% 含有する **5** を用いても所望の反応が十分に進行し、イミン **7** を生じる副反応は抑制され、タール状物質の副生も抑制された。さらに閉環反応に続いて one-pot で脱アセタールを行い、反応混合物から直接アルデヒド **2b** を晶析することを試みた。閉環反応の完結後、含水酢酸を反応混合物に添加すると、脱保護されて生じた **2b** が高い純度（97.2~99.4%、HPLC 分析）の結晶として析出し、高い収率（82~86%）で得られた。ビナミジニウム塩 **5** を 2.4 当量から 1.6 当量に減量しても、同様な結果が得られた（run 5）。またトリエチルアミン（3.0 当量）とモルホリン（3.0 当量）の組み合わせではなく、モルホリンを単独で（6.0 当量）使用すると、収率は 94% に改善された（run 6）。

$3b \xrightarrow{5, R_2NH, n-BuOH} \left( \text{Ar-C(=O)-NH-} \begin{array}{c} \text{Me} \\ \text{N} \end{array} \text{C}_6\text{H}_3\text{-CH(NR}_2\text{)}_2 \right) \xrightarrow{aq \text{ AcOH}} 2b$

Ar = 

<sup>a</sup>反応条件：80 °C、3～8 時間 <sup>b</sup>MW 312.89、水分 5 w/w%による補正は未実施 <sup>c</sup>HPLC <sup>d</sup>ピーク面積百分率

次いで、当該反応条件に影響を及ぼさない水分量を調査した (Table 4-3)。まず水分量の少ない側について、無水の **5** を用いて反応を行い、当該反応に適用可能であることを確認した (run 1)。典型的な水分量 5.0% が適用可能なことは前述した通りである (run 2)。次に水分量の多い側について、典型的な水分量 5.0% の **5** を使用して 6.3% 相当の水を添加し、計 11.3% (**5** の二水和物に相当) の水分量について確認した (run 3)。この場合、基質 **3b** や閉環前の中間体が消費される速度が低下し、反応完結まで長時間 (24 時間) を要した。しかしながら反応完結後、含水酢酸を滴下すると、従来品とほぼ同等な品質、収率

で **2b** が得られた。この検討により、系中でアミナル保護するシステムは水分に対して高い寛容性を示し、約 10% 程度の水分量まで許容されることが確認された。

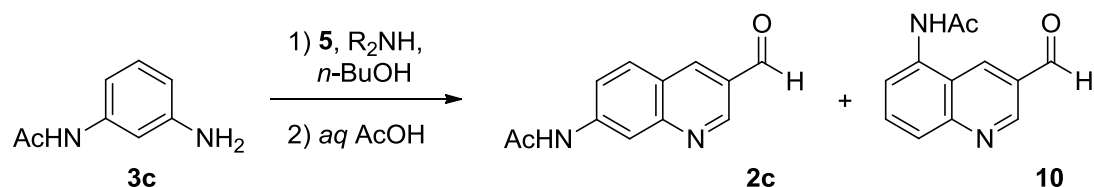
**Table 4-3** 水に対する寛容性の調査 <sup>a</sup>

run	water content of <b>5</b> (w/w%)	reaction time (h)	yield of <b>2b</b> (%)	LCAP (%) <sup>b</sup>
1	0.0	4	88	99.8
2	5.0	3	94	99.8
3 <sup>c</sup>	11.3	24	92	99.7

<sup>a</sup> 反応条件 : **5** (1.6 当量、MW 312.89、水分 **5** w/w% による補正は未実施)、モルホリン (6.0 当量)、80 °C <sup>b</sup>HPLC ピーク面積百分率 <sup>c</sup> 水分 5.0 w/w% の **5** を用いて 6.3 w/w% の水を添加した

最後に、当該反応条件を適用して実際にパイロットプラントで **2b** の製造を複数バッチ行い、設定した製法が数キログラムスケールの製造に適用可能であること、また十分な再現性を有することを検証した。1 バッチめは、**3b** (21.8 kg) と **5** (37.1 kg、水分量 : 5.3%) を用いて **2b** (24.3 kg) の製造に成功した。品質は 100.0% (HPLC 分析)、収率は 92% であった。続く 2 バッチめは、同一のバッチサイズで反応を行い、99.9% の品質 (HPLC 分析) を有する **2b** を収率 91% で得た。これらの結果から、当該反応条件は数キログラムスケールにおいても上手く機能し、良好な再現性を与えることが確認された。

またさらに、当該反応条件が一般的な基質 3-アセチルアミノアニリン **3c** に適用可能か評価した (Scheme 4-6)。ビナミジニウム塩 **5** と 2 級アミンとの組み合わせを適用して 80 °C で 2 時間反応すると、スムーズに反応が進行して所望の 7-アセチル-3-ホルミルキノリン **2c** が得られた。3-アセチルアミノアニリン **3c** の場合、反応点が 2 箇所存在するため位置選択性が潜在的な問題となった。モルホリンを用いた場合、HPLC 分析によると位置異性体 **10** は **2c** に対して 1 : 13 のモル比で生じ、**2c** は収率 79% で得られた。2 級アミンをピペリジンに代えると、位置選択性は 1 : 28 まで改善され、**2c** の収率はさらに改善されて 90% となった。このように、基質によっては位置選択性の問題が生じるものの、収率の観点からは十分に適用可能と言える。



**Scheme 4-6** ビナミジニウム塩 **5** と 2 級アミンによる位置選択的キノリン環化反応

## 第6節 小括

第 4 章では、2-イミノオメチルビナミジニウムトリハロゲン化物塩 **5** を初めて結晶として単離することに成功した。従来知られている 2-イミノオメチルビナミジニウムジハロゲン化物塩 **4b** が空气中、潮解して分解するのに対し、**5** は空气中で潮解しない特性を示した。また長期間の保存が可能であった。このような特性は、トリホルミルメタン等価体 **5** の合成試薬としての価値を高める。ビナミジニウム塩 **5** の製造法については、そのスケールアップ検討を行い、大量製造法を確立するに至った。また空气中で安定に取り扱えるビナミジニウム塩 **5** を適用することにより、MCHR1 拮抗薬 **1** の鍵中間体である 7-アシルアミノ-3-ホルミルキノリン **2b** の大量製造法を確立した。ビナミジニウム塩 **5** を用いたキノリン閉環反応を開発する鍵となったのは、2 級アミンを用いることで実現した系中でのアセタール保護にあった。当該反応条件の採用により、問題となったイミン **7** やタール状物質の副生を効果的に抑制することができた。また最適条件下では、当該反応は水分に対して比較的高い寛容性を示し、このことが大量製造法の開発に大きく貢献した。

## 第7節 実験の部

実験に使用した試薬および溶媒は、特に記載のない限り、既知化合物、市販の試薬および溶媒を精製せずに使用した。融点は Büchi Melting Point B-540 を用いて測定し、未補正である。IR スペクトルは Horiba FT-210 spectrometer (KBr 法またはヌジョール法)

または Thermo Electron Nicolet 4700 spectrometer (ATR 法) を用いて測定した。NMR スペクトルは Bruker DPX-300 spectrometer を用いて測定した。テトラメチルシランを内部標準物質として使用し、ケミカルシフトは ppm、カップリング定数 ( $J$ ) は Hz で記載した。水分は Hiranuma AQV-7 Karl Fischer volumetric titrator を用いて測定した。元素分析、質量分析およびイオンクロマトグラフィー分析は旧株式会社武田分析研究所(現株式会社住化分析センター) にて実施した。HPLC 分析には Hitachi L-7000 を使用し、特に記載のない限り、UV 検出器を用いて UV 254 nm で検出した。HPLC で決定した化合物の純度は、総ピーク面積に対するピーク面積百分率で記載した。合成した全ての化合物は、 $^1\text{H}$  NMR スペクトルおよび HPLC 分析により 95%以上の純度を有すると判断した。

### 2-iminiomethylvinamidinium trichloride (**5**, $\text{X}=\text{Cl}$ ) の合成

本文に記載したプロセス研究の後、DMF およびオキシ塩化リンの使用量を 2 倍に増量することにより、臭化物イオンを含まないタイプのビナミジニウム塩 **5** ( $\text{X}=\text{Cl}$ ) の収率は 78%まで改良された。以下には当該実験結果を記載する。

クロロ酢酸(2.00 g, 21.2 mmol)の DMF (18.6 g, 254 mmol)溶液にオキシ塩化リン(26.0 g, 170 mmol)を 0 °C で滴下し、80 °C で 1 時間、95 °C で 1 時間、105 °C で 1 時間攪拌した。反応混合物を室温に冷却し、濃塩酸(4.29 g, 42.4 mmol)と THF (120 mL)を順次添加して 0.5 時間攪拌した。乾燥窒素を用いて析出物を加圧ろ過し、THF (40 mL)で洗浄し、乾燥窒素を通気して乾燥し、白色結晶の **5** (5.10 g, 16.5 mmol, 1 水和物換算)を得た。収率 78%

Mp 129-131 °C;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  3.48 (s, 9H), 3.59 (s, 9H), 6.95 (br s, 3H), 8.93 (s, 3H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  43.78, 48.80, 91.43, 165.24; IR (ATR)  $\nu$  1619, 1453, 1417, 1319  $\text{cm}^{-1}$ . Anal. Calcd for  $\text{C}_{10}\text{H}_{22}\text{N}_3\text{Cl}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ : C, 38.91; H, 7.84; N, 13.61; Cl, 34.36. Found: C, 38.56; H, 8.21; N, 13.63; Cl, 34.58.

### 2-iminiomethylvinamidinium trihalide (**5**, $\text{X}=\text{Br}/\text{Cl}$ ) の合成



ブロモ酢酸(49.5 kg, 356 mol)の DMF (155.7 kg, 2130 mol)溶液にオキシ塩化リン(217.9 kg, 1421 mol)を 0 °C で滴下し、80 °C で 1 時間、95 °C で 1 時間、105 °C で 1 時間攪拌した。反応混合物を室温に冷却し、48%臭化水素酸(119.7 kg, 710mol)と THF (877 kg)を順次滴下して 2 時間攪拌した。乾燥窒素を用いて析出物を加圧ろ過し、THF (439 kg)と EtOH (78 kg)の混液で洗浄し、乾燥窒素を 60 °C で通気して乾燥し、白色結晶の **5** (84.1 kg, 263 mol, H<sub>2</sub>O: 5.3 w/w%) を得た。収率 74%

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 3.48 (s, 9H), 3.59 (s, 9H), 6.86 (br s, 3H), 8.87 (s, 3H);  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 43.77, 48.88, 91.45, 165.24.

#### 2-iminiomethylvinamidinium trihalide (**5**) から 2-iminiomethylvinamidinium dihalide (**4b**) への変換

**5** (50.0 g)に約 50%RH の空気を室温で 9 時間通気して加湿し、茶色固体の **4b** (45.9 g)を得た。

<sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 3.48 (s, 9H), 3.59 (s, 9H), 3.65 (br s, 2H), 8.91 (s, 3H);  
<sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>) δ 43.81, 48.86, 91.44, 165.20.

#### *N*-(3-amino-2-methylphenyl)-4-(cyclopropylmethoxy)benzamide (**3b**) の合成

4-ヒドロキシ安息香酸エチル(24.6 kg, 148 mol)をナトリウムエトキシドの 20%エタノール溶液(55.3 kg, 163 mol)に溶解し、次いでブロモメチルシクロプロパン(30 kg, 222 mol)を添加して 3 時間還流した。反応混合物に 3 M 水酸化ナトリウム水溶液(73.9 kg, 222 mol)を添加して 2 時間還流した。濃塩酸 (59 kg)を添加した後、室温に冷却した。析出物をろ取し、水とエタノールの 2 : 1 混液(46 kg)で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の 4- (シクロプロピルメトキシ) 安息香酸(26.6 kg, 138 mol)を得た。収率 93%

Mp 180 °C; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, CDCl<sub>3</sub>) δ 0.35–0.40 (m, 2H), 0.64–0.70 (m, 2H), 1.27–1.31 (m, 1H), 3.88 (d, *J*=6.9 Hz, 2H), 6.91–6.96 (m, 2H), 8.03–8.08 (m, 2H); <sup>13</sup>C NMR

(75 MHz, CDCl<sub>3</sub>)  $\delta$  3.23, 10.08, 72.96, 114.27, 121.48, 132.34, 163.54, 171.67; IR (KBr)  $\nu$  3084, 1675 cm<sup>-1</sup>; MS (FAB)  $m/z$  193 (MH)<sup>+</sup>. Anal. Calcd for C<sub>11</sub>H<sub>12</sub>O<sub>3</sub>: C, 68.74; H, 6.29. Found: C, 68.48; H, 6.20.

4- (シクロプロピルメトキシ) 安息香酸(25.0 kg, 130 mol)のトルエン(217 kg)懸濁液に DMF (0.5 kg)と塩化チオニル(18.6 kg, 156 mol)を添加し、40~50 °C で 1 時間攪拌して酸クロリド溶液を調製した。トルエンと THF の 5 : 3 混液(350 kg)に 2,6-ジアミノトルエン **3a** (23.8 kg, 195 mol)とトリエチルアミン(35.5 kg, 351 mol)を懸濁し、酸クロリド溶液を 0 °C 以下で滴下した。反応混合物を 0 °C で 0.5 時間、室温で 2 時間攪拌した後、アセトン(791 kg)と水(200 kg)を添加して分液した。有機層を 5%炭酸水素ナトリウム水溶液(205 kg)と水(200 kg)で順次洗浄し、減圧濃縮により溶媒をエタノール(198 kg)に置換した。室温で 1 時間攪拌した後、析出物をろ取り、エタノール(237 kg)で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の **3b** (35.4 kg, 119 mol)を得た。収率 92%

Mp 202 °C; <sup>1</sup>H NMR (300 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  0.33–0.37 (m, 2H), 0.56–0.62 (m, 2H), 1.21–1.27 (m, 1H), 1.91 (s, 3H), 3.89 (d,  $J$ =6.9 Hz, 2H), 4.86 (s, 2H), 6.49–6.57 (m, 2H), 6.86–6.93 (m, 1H), 6.96–7.07 (m, 2H), 7.89–7.99 (m, 2H), 9.62 (s, 1H); <sup>13</sup>C NMR (75 MHz, DMSO-*d*<sub>6</sub>)  $\delta$  3.98, 10.93, 13.05, 73.12, 112.94, 114.87, 116.04, 118.90, 126.30, 127.58, 130.28, 137.68, 148.10, 161.97, 165.55; IR (KBr)  $\nu$  3419, 3313, 1644 cm<sup>-1</sup>; MS (FAB)  $m/z$  297 (MH)<sup>+</sup>. Anal. Calcd for C<sub>18</sub>H<sub>20</sub> N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>: C, 72.95; H, 6.80; N, 9.45. Found: C, 72.90; H, 6.82; N, 9.59.

#### 4-cyclopropylmethoxy-*N*-(3-dibutoxymethyl-8-methylquinolin-7-yl)benzamide (**8**) の合成

**4b** (8.60 g)のブタノール(100 mL)懸濁液に **3b** (5.00 g, 16.9 mmol)を添加し、110 °C で 65 時間攪拌した。反応混合物を減圧濃縮した。残渣(21.8 g)にアセトニトリル(25 mL)を添

加して溶解し、水(25 mL)を室温で滴下した。析出物をろ取し、50%アセトニトリル水溶液(50 mL)で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の **8** (6.49 g, 13.2 mmol)を得た。収率 78%

Mp 125–126 °C;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.42–0.37 (m, 2H), 0.72–0.66 (m, 2H), 0.93 (t,  $J=7.3$  Hz, 6H), 1.33–1.28 (m, 1H), 1.49–1.37 (m, 4H), 1.68–1.59 (m, 4H), 2.81 (s, 3H), 3.63–3.50 (m, 4H), 3.89 (d,  $J=6.9$  Hz, 2H), 5.75 (s, 1H), 7.00 (d,  $J=8.8$  Hz, 2H), 7.74 (d,  $J=8.9$  Hz, 1H), 7.94–7.90 (m, 3H), 8.19 (d,  $J=1.8$  Hz, 1H), 8.29 (d,  $J=8.9$  Hz, 1H), 9.00 (d,  $J=2.1$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.66, 10.53, 11.84, 14.29, 19.88, 32.23, 65.67, 73.41, 100.29, 115.08, 123.42, 125.55, 125.91, 126.59, 127.20, 129.42, 131.26, 134.49, 137.14, 147.54, 149.35, 162.59, 165.65; IR (KBr)  $\nu$  1647, 1609, 1507, 1256  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI)  $m/z$  491 (MH) $^+$ . Anal. Calcd for  $\text{C}_{30}\text{H}_{38}\text{N}_2\text{O}_4$ : C, 73.44; H, 7.81; N, 5.71. Found: C, 73.35; H, 7.85; N, 5.65.

#### 4-cyclopropylmethoxy-*N*-(3-dibutoxymethyl-8-methylquinolin-7-yl)benzamide (**8**) の加水分解

**8** (5.00 g, 10.2 mmol)のアセトニトリル(25 mL)懸濁液に 50 °C で 6 M 塩酸(2.5 mL, 15.0 mmol)を添加した。室温に冷却した後、水(20 mL)と 5 M 水酸化ナトリウム水溶液(3.0 mL, 15.0 mmol)を添加して 1.5 時間攪拌した。析出物をろ取し、50%アセトニトリル水溶液(10 mL)で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の **2b** (3.57 g, 9.91 mmol)を得た。収率 97%

#### 4-cyclopropylmethoxy-*N*[3-(di-morpholin-4-yl-methyl)-8-methyl-quinolin-7-yl]-benzamide (**9a**) の合成

**5** (859 mg, 2.75 mmol)のブタノール(5 mL)懸濁液にモルホリン(884 mg, 10.2 mmol)と **3b** (500 mg, 1.69 mmol)を添加し、80 °C に加温して 3 時間、室温に冷却して 1.5 時間攪拌した。析出物をろ取し、ブタノール(10 mL)で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の **9a** (796 mg, 1.54 mmol)を得た。収率 91%

Mp 206–208 °C;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  0.42–0.37 (m, 2H), 0.72–0.66 (m, 2H), 1.34–1.29 (m, 1H), 2.56–2.43 (m, 8H), 2.82 (s, 3H), 3.70 (t,  $J=4.5$  Hz, 8H), 3.91–3.88 (m, 3H), 7.01 (d,  $J=8.8$  Hz, 2H), 7.73 (d,  $J=8.9$  Hz, 1H), 7.96–7.89 (m, 4H), 8.32 (d,  $J=8.9$  Hz, 1H), 8.86 (d,  $J=2.0$  Hz, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$  3.66, 10.53, 11.76, 50.00, 67.48, 73.42, 87.68, 115.08, 123.62, 125.55, 125.90, 126.25, 126.51, 127.16, 129.45, 136.32, 137.13, 147.54, 150.58, 162.61, 165.66; IR (KBr)  $\nu$  1652, 1638, 1609, 1108  $\text{cm}^{-1}$ . Anal. Calcd for  $\text{C}_{30}\text{H}_{36}\text{N}_4\text{O}_4$ : C, 69.74; H, 7.02; N, 10.84. Found: C, 69.82; H, 7.06; N, 10.88.

#### 4-cyclopropylmethoxy-*N*-(3-formyl-8-methyl-quinolin-7-yl)benzamide (**2b**) の合成

**5** (37.0 kg, 118 mol)のブタノール(264 kg)懸濁液にモルホリン(38.7 kg, 442 mol)と **3b** (21.8 kg, 73.6 mol)を添加し、80 °Cで4時間攪拌した。反応混合物に酢酸(57 kg)と水(54 kg)を順次添加し、室温に冷却して1時間攪拌した。析出物をろ取し、90%酢酸(60 kg)と水(48 kg)の混液、水(109 kg)で順次洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の **2b** (24.3 kg, 67.4 mol)を得た。収率 92%

Mp 201–202 °C;  $^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  0.39–0.34 (m, 2H), 0.63–0.57 (m, 2H), 1.29–1.24 (m, 1H), 2.69 (s, 3H), 3.93 (d,  $J=7.0$  Hz, 2H), 7.08 (d,  $J=8.7$  Hz, 2H), 7.82 (d,  $J=8.7$  Hz, 1H), 8.07–8.01 (m, 3H), 8.92 (d,  $J=2.0$  Hz, 1H), 9.31 (d,  $J=2.0$  Hz, 1H), 10.14 (s, 1H), 10.26 (s, 1H);  $^{13}\text{C}$  NMR (75 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  4.00, 10.91, 13.42, 73.21, 115.05, 125.54, 126.91, 127.82, 128.00, 128.66, 130.64, 131.38, 140.90, 141.08, 148.90, 150.06, 162.42, 165.76, 193.11; IR (KBr)  $\nu$  1695, 1606, 1503, 1285, 1250  $\text{cm}^{-1}$ ; MS (ESI)  $m/z$  361 (MH) $^+$ . Anal. Calcd for  $\text{C}_{22}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_3$ : C, 73.32; H, 5.59; N, 7.77. Found: C, 73.53; H, 5.66; N, 7.78.

#### *N*-(3-formylquinolin-7-yl)acetamide (**2c**) の合成

**5** (1.53 g, 4.89 mmol)のブタノール(10 mL)懸濁液にピペリジン(1.28 g, 15.03 mmol)と **3c** (0.50 g, 3.33 mmol)を添加し、80 °Cで2時間攪拌した。反応混合物に酢酸(5 mL)と水

(5 mL)を順次添加して減圧濃縮した。残渣に水(10 mL)を添加して溶解し、5 M 水酸化ナトリウム水溶液(5 mL)を添加して室温で1時間攪拌した。析出物をろ取し、水(10 mL)で洗浄し、減圧乾燥して白色結晶の **2c** (0.64 g, 2.99 mmol) を得た。収率 90%

$^1\text{H}$  NMR (300 MHz,  $\text{DMSO}-d_6$ )  $\delta$  2.16 (s, 3H), 7.81 (dd,  $J=2.0, 8.9$  Hz, 1H), 8.13 (d,  $J=8.9$  Hz, 1H), 8.51 (d,  $J=1.7$  Hz, 1H), 8.83 (d,  $J=2.0$  Hz, 1H), 9.21 (d,  $J=2.0$  Hz, 1H), 10.18 (s, 1H), 10.50 (s, 1H); MS (ESI)  $m/z$  215 (MH) $^+$ . Anal. Calcd for  $\text{C}_{12}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ : C, 62.06 H, 5.21 N, 12.06. Found: C, 62.05 H, 5.11 N, 12.02.

## 第8節 参考文献

- (1) 肥満症を取り巻く現況について : (a) Kim, G. W.; Lin, J. E.; Blomain, E. S.; Waldman, S. A. *Expert Opin. Drug Discov.* **2013**, *8*, 655-671; (b) Obesity and Overweight; Fact Sheet No. 311. World Health Organization: Geneva, Switzerland. <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs311/en/index.html>.
- (2) アミノ酸を含有しないペプチドミメティクス MCHR1 拮抗薬の例 : (a) Takekawa, S.; Asami, A.; Ishihara, Y.; Terauchi, J.; Kato, K.; Shimomura, Y.; Mori, M.; Murakoshi, H.; Kato, K.; Suzuki, N.; Nishimura, O.; Fujino, M. *Eur. J. Pharmacol.* **2002**, *438*, 129-135; (b) Kamata, M.; Yamashita, T.; Imaeda, T.; Tanaka, T.; Masada, S.; Kamaura, M.; Kasai, S.; Hara, R.; Sasaki, S.; Takekawa, S.; Asami, A.; Kaisho, T.; Suzuki, N.; Ashina, S.; Ogino, H.; Nakano, Y.; Nagisa, Y.; Kato, K.; Kato, K.; Ishihara, Y. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 2353-2366; (c) Kasai, S.; Kamata, M.; Masada, S.; Kunitomo, J.; Kamaura, M.; Okawa, T.; Takami, K.; Ogino, H.; Nakano, Y.; Ashina, S.; Watanabe, K.; Kaisho, T.; Imai, Y. N.; Ryu, S.; Nakayama, M.; Nagisa, Y.; Takekawa, S.; Kato, K.; Murata, T.; Suzuki, N.; Ishihara, Y. *J. Med. Chem.* **2012**, *55*, 4336-4351.
- (3) Lloyd, D.; McNab, H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **1976**, *15*, 459-468.
- (4) Tom, N. J.; Ruel, E. M. *Synthesis* **2001**, 1351-1355.

- (5) Gupton, J. T.; Gall, J. E.; Riesinger, S. W.; Smith, S. Q.; Bevirt, K. M. *J. Heterocyclic Chem.* **1991**, 28, 1281-1285.
- (6) Keen, S. P.; Cowden, C. J.; Bishop, B. C.; Brands, K. M. J.; Davies, A. J.; Dolling, U. H.; Lieberman, D. R.; Stewart, G. W. *J. Org. Chem.* **2005**, 70, 1771-1779.
- (7) Adnen, H. A. M.; Jameleddine, K.; Bechir, B. H. *Mol. Divers.* **2008**, 12, 61-64.
- (8) Gupton, J. T.; Krolikowski, D. A.; Yu, R. H.; Riesinger, S. W. *J. Org. Chem.* **1990**, 55, 4735-5740.
- (9) Angus, Jr., R. O.; Bryce, M. R.; Keshavarz-K., M.; Wudl, F. *Synthesis* **1988**, 746-748.
- (10) Petrich, S. A.; Hicks, F. A.; Wilkinson, D. R.; Tarrant, J. G.; Bruno, S. M.; Vargas, M.; Hosein K. N.; Gupton, J. T. *Tetrahedron* **1995**, 51, 1575-1584.
- (11) Marcoux, J.-F.; Corley, E. G.; Rossen, K.; Pye, P.; Wu, J.; Robbins, M. A.; Davies, I. W.; Larsen, R. D.; Reider, P. J. *Org. Lett.* **2000**, 2, 2339-2341.
- (12) Davies, I. W.; Marcoux, J.-F.; Corley, E. G.; Journet, M.; Cai, D.-W.; Palucki, M.; Wu, J.; Larsen, R. D.; Rossen, K.; Pye, P. J.; DiMichele, L.; Dormer, P.; Reider, P. J. *J. Org. Chem.* **2000**, 65, 8415-8420.
- (13) Marcoux, J.-F.; Marcotte, F.-A.; Wu, J.; Dormer, P. G.; Davies, I. W.; Hughes, D.; Reider, P. J. *J. Org. Chem.* **2001**, 66, 4194-4199.
- (14) Davies, I. W.; Marcoux, J.-F.; Kuethe, J. T.; Lankshear, M. D.; Taylor, Jeremy D.O.; Tsou, N.; Dormer, P. G.; Hughes, D. L. *J. Org. Chem.* **2004**, 69, 1298-1308.
- (15) Jameleddine, K.; Adnen, H. A. M.; Béchir, B. H. *Tetrahedron Lett.* **2006**, 47, 2973-2975.
- (16) Mityuk, A. P.; Kolodych, S. E.; Mytnyk, S. A.; Dmytriv, Y. V.; Volochnyuk, D. M.; Mykhailiuk, P. K.; Tolmachev, A. A. *Synthesis*, **2010**, 2767-2770.
- (17) Samar, C.; Fayçel, J.; Jameleddine, K. *Tetrahedron Lett.* **2011**, 52, 3648-3650.

- (18) Ayed, M. A. H.; Gmiza, T.; Khiari J.E.; Hassine, B. B. *Synth. Commun.* **2012**, *42*, 1824-1831.
- (19) Keshavartz-K, M.; Cox, S. D.; Angus Jr., R. O.; Wudl, F. *Synthesis* **1988**, 641-644.
- (20) Budesinsky, M.; Fiedler, P.; Arnold, Z. *Synthesis* **1989**, *11*, 858-860.
- (21) Davies, I. W.; Marcoux, J.-F.; Wu, J.; Palucki, M.; Corley, E. G.; Robbins, M. A.; Tsou, N.; Ball, R. G.; Dormer, P.; Larsen, R. D.; Reider, P. J. *J. Org. Chem.* **2000**, *65*, 4571-4574.
- (22) Ragan, J. A.; McDermott, R. E.; Jones, B. P.; am Ende, D. J.; Clifford, P. J.; McHardy, S. J.; Heck, S. D.; Liras, S.; Segelstein, B. E. *Synlett* **2000**, 1172-1174.
- (23) Ragan, J. A.; am Ende, D. J.; McHardy, S. J.; Liras, Schemeng. *Chem. Eng. News* **2000**, *78*, 8.
- (24) Davies, I. W.; Tellers, D. M.; Shultz, C. S.; Fleitz, F. J.; Cai, D.; Sun, Y. *Org. Lett.* **2002**, *4*, 2969-2972.
- (25) Palucki, M.; Lin, Z.; Sun, Y. *Org. Process Res. Dev.* **2005**, *9*, 141-148.

## 謝辞

本論文の執筆に際して終始ご懇篤なご指導、ご高配を賜りました、岡山大学大学院 環境生命科学研究科 泉実准教授に心から感謝申し上げます。また本論文の審査をお引き受け頂き、有益なご助言とご指導を賜りました、岡山大学大学院 環境生命科学研究科 村田芳行教授、清田洋正教授、仁戸田照彦准教授に厚くお礼申し上げます。

本研究は、武田薬品工業株式会社 ファーマシューティカル・サイエンス プロセスケミストリーにて行われました。本研究の発表の機会を与えて頂きました、武田薬品工業株式会社 ファーマシューティカル・サイエンス プロセスケミストリー ヘッド **Quentin McCubbin** 博士、同リサーチマネージャー 黒田賢史氏、同主席研究員 石丸洋一郎氏に深く感謝致します。また本研究を進めるに当たり、終始懇切なご助言とご激励を賜りました、同主席研究員 山野光久氏、同主席研究員 池本朋己博士、同主任研究員 福田直弘博士に深く感謝致します。

さらに本研究に際して種々のご協力を頂いた、武田薬品工業株式会社 ファーマシューティカル・サイエンス プロセスケミストリーの諸氏に感謝致します。特に共に実験を行い、種々ご尽力頂いた、水野正博博士、伊藤達也博士、池内元樹氏、山根泰平氏、川上淳一博士、川口信治氏、山田雅俊氏に深く感謝致します。LC-MS 分析を行って頂いた岡頭一氏、単結晶 X 線構造解析を行って頂いた東川恵子氏、キラル HPLC 分析を行って頂いた道園公美子氏、熱分析を行って頂いた杉山僚氏、英語論文の作成に際して有益なご助言を頂いた **David Cork** 博士に深く感謝致します。また種々の分析を行って頂いた旧武田分析研究所の諸氏に感謝いたします。

最後に、本論文の執筆を温かく見守ってくれた妻容子に心から感謝します。



## 研究業績リスト

### 参考論文 (学位論文の主たる部分を公表した論文)

1. A Practical Synthesis of Enantiopure  $\beta$ -Methyltryptophan Ethyl Ester for a Preparation of Diabetes Drug

Sawai, Y.; Mizuno, M.; Ito, T.; Kawakami, J.; Yamano, M. *Tetrahedron* **2009**, *65*, 7122-7128.

2. Process for the Preparation of an Amorphous, Peptide-like Diabetes Drug: Approach to a Chromatography-Free Process

Sawai, Y.; Yamane, T.; Ikeuchi, M.; Kawaguchi, S.; Yamada, M.; Yamano M. *Org. Process Res. Dev.* **2010**, *14*, 1110-1117.

3. Synthesis of a Stable Triformylmethane Synthone and its Scalable Application to 7-Acylamino-3-formylquinoline Synthesis

Sawai, Y.; Mizuno, M.; Ito, T.; Yamano, M. *Tetrahedron* **2014**, *70*, 2370-2377.

### その他の論文

1. 1,3-Asymmetric Induction by Planar Chiral (4-Diene)Fe(CO)<sub>3</sub> Complexes in Diels-Alder Reaction

Nakanishi, S.; Kumeta, K.; Sawai, Y.; Takata, T. *J. Organomet. Chem.* **1996**, *515*, 99-101.

2. CO Insertion of (3-Allyl)Fe(CO)<sub>2</sub>(NO) Complexes by Diphosphines

Nakanishi, S.; Sawai, Y.; Yamamoto, T.; Takata, T. *Organometallics* **1996**, *15*, 5432-5435.

3. Synthesis of Metabolites of Ethyl 4-(3,4-Dimethoxyphenyl)-6,7-dimethoxy-2-(1,2,4-triazol-1-ylmethyl)quinoline-3-carboxylate (TAK-603)

Mizuno, M.; Yamashita, M.; Sawai, Y.; Nakamoto, K.; Goto, M. *Tetrahedron* **2006**, *62*,

8707-8714.

4. Double Reformatsky Reaction: Divergent Synthesis of  $\delta$ -Hydroxy- $\beta$ -ketoester

Mineno, M.; Sawai, Y.; Kanno, K.; Sawada, N.; Mizufune, H. *J. Org. Chem.* **2013**, *78*, 5843-5850.

5. Convergent and Streamlined Synthesis of 6-Etherified Imidazo[1,2-b]pyridazine-2-amine Derivatives Possessing VEGFR-2 Kinase Inhibitory Activity

Ishimoto, K.; Sawai, Y.; Fukuda, N.; Nagata, T.; Ikemoto, T. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 8564-8571.

6. A rapid and diverse construction of 6-substituted-5,6-dihydro-4-hydroxy-2-pyrones through double Reformatsky reaction

Mineno, M.; Sawai, Y.; Kanno, K.; Sawada, N.; Mizufune, H. *Tetrahedron* **2013**, *69*, 10921-10926.

7. Development of a Scalable Synthesis of a Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-2 Kinase Inhibitor: Efficient Construction of a 6-Etherified [1,2,4]Triazolo[1,5-a]pyridine-2-amine Core

Ishimoto, K.; Fukuda, N.; Nagata, T.; Sawai, Y.; Ikemoto, T. *Org. Process Res. Dev.* **2014**, *18*, 122-134.

8. A Nitrogen-assisted One-pot Heteroaryl Ketone Synthesis from Carboxylic Acids and Heteroaryl Halides

Demkiw, K.; Araki, H.; Elliott, E.; Franklin, C.; Fukuzumi, Y.; Hicks, F.; Hosoi, K.; Hukui, T.; Ishimaru, Y.; O'Brien, E.; Omori, Y.; Mineno, M.; Mizufune, H.; Sawada, N.; Sawai, Y.; Zhu, L. *J. Org. Chem.* **2016**, *81*, 3447-3456.

口頭発表

1. ( $\eta^3$ -アリル) ジカルボニルニトロシル鉄錯体のカルボニル挿入反応

澤井泰宏, 山本健, 中西三郎

第 41 回有機金属化学討論会 (1994 年 10 月, 大阪)

2. 光学活性  $\beta$ -メチルトリプトファンの実用的製法の開発

澤井泰宏, 水野正博, 伊藤達也, 山野光久

日本プロセス化学会 2006 サマーシンポジウム (2006 年 7 月, 京都)

3. 選択的 SSTR2 アゴニスト活性を有する新規テトラヒドロキノリン誘導体の実用的製法の開発

澤井泰宏, 山根泰平, 川口信治, 山田雅俊, 寺内淳, 山野光久

日本プロセス化学会 2007 サマーシンポジウム (2007 年 8 月, 東京)

4. Process Research of Peptide Mimetic Compounds as Diabetic Drug Candidate

澤井泰宏

18<sup>th</sup> International Conference on Organic Process Research and Development (2008 年 6 月, モントリオール)

5. A Stable Triformylmethane Synthon

澤井泰宏

15<sup>th</sup> Belgian Organic Synthesis Symposium (2016 年 7 月, アントワープ)

特許

1. Method for Producing 1-Substituted-1,2,3-Triazole Derivative

Ikemoto, T.; Ito, T.; Tomimatsu, K.; Sawai, Y.; Nishiyama, H.; Isogami, Y. *PCT Int. Appl.* WO2002/006249, **2002**.

2. Method for Producing Optically Active Threo- $\beta$ -alkyltryptophan Derivative and Intermediate Thereof

Sawai, Y.; Ito, T.; Yamano, M.; Aoki, I.; Adachi, M. *PCT Int. Appl.* WO2005/021502, **2005**.

3. Stable Vinamidinium Salt and Nitrogen-containing Heterocyclic Ring Synthesis Using the Same

Yamano, M.; Sawai, Y.; Mizuno, M. *PCT Int. Appl.* WO2009/119817, **2009**.

4. Production Method of Imizazole Derivatives

Kawabata, Y.; Sawai, Y.; Kanno, K.; Sawada, N. *PCT Int. Appl.* WO2012/173280, **2012**.

#### その他の著書

1. Green Process for Peptide Mimetic Diabetic Drugs

Sawai, Y; Yamano, M. In *Green Chemistry in the Pharmaceutical Industry*, Dunn, P.; Wells. A.; Williams, M. T. Eds.; Wiley-VCH: Weinheim, 2010; pp. 179-195.

以上